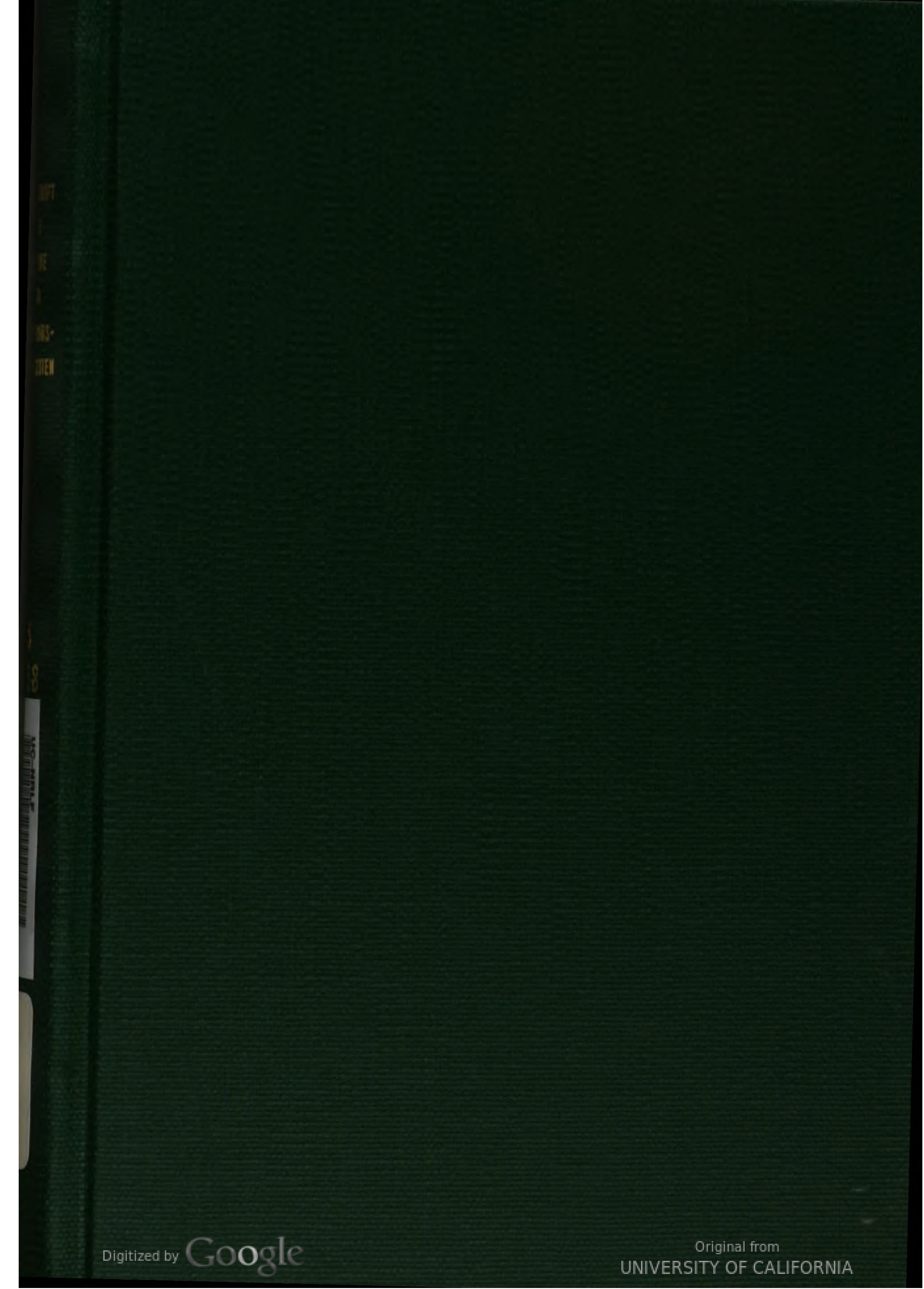
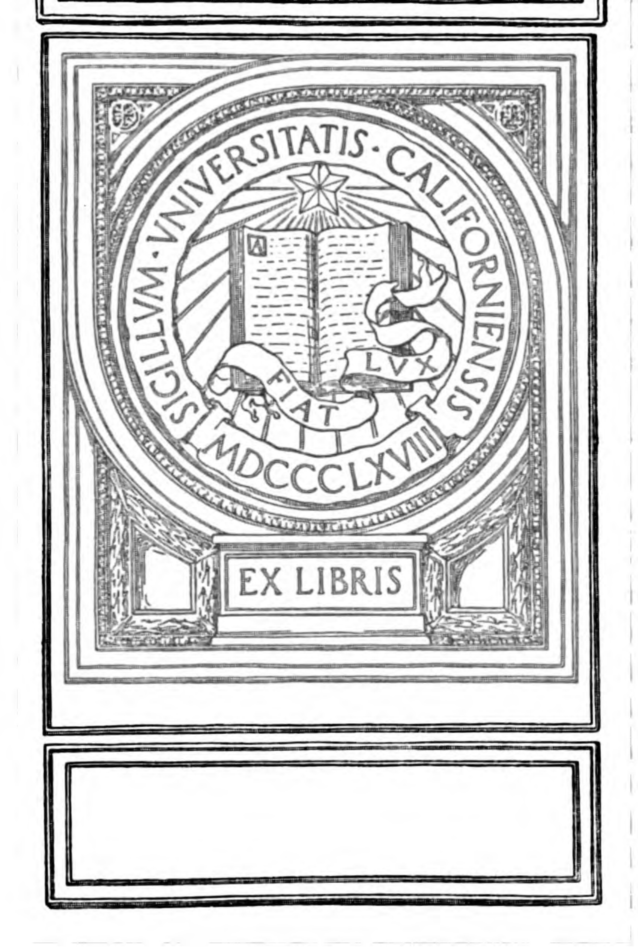



SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT
LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS





# ZEITSCHRIFT
FÜR
# HYGIENE
UND
# INFEKTIONSKRANKHEITEN.

HERAUSGEGEBEN

VON

PROF. DR. C. FLÜGGE,
GEH. MED.-RAT UND DIREKTOR DES HYG. INSTITUTS DER UNIVERSITÄT BERLIN,

PROF. DR. G. GAFFKY,
WIRKL. GEH. OBERMEDIZINALRAT ZU HANNOVER,

UND

PROF. DR. F. NEUFELD,
GEH. MED.-RAT UND DIREKTOR DES INSTITUTS FÜR INFEKTIONSKRANKHEITEN „ROBERT KOCH“ ZU BERLIN.

---

FÜNFUNDACHTZIGSTER BAND.

MIT ZAHLREICHEN ABBILDUNGEN IM TEXT UND ACHT TAFELN.



LEIPZIG

VERLAG VON VEIT & COMP.

1918





Druck von Metzger & Wittig in Leipzig

# Inhalt.

[Aus dem Biologischen Laboratorium (Dr. E. Teichmann) des Städtischen Hygienischen Instituts der Kgl. Universität Frankfurt
(Direktor: Prof. Dr. M. Neisser)].

# Bekämpfung der Stechmücken durch Blausäure.

Von

Dr. Ernst Teichmann,
Privatdozent an der Universität.

## I.
## Die Anwendung des Verfahrens auf Imagines.

Daß Blausäure ein geeignetes Mittel zur Vertilgung der Kleiderläuse ist, wurde von mir durch eingehende Versuche erwiesen.[1] Alle Entwicklungsstadien des Pediculus vestimenti, vom frisch abgelegten Ei bis zur geschlechtsreifen Imago, werden, so ergab sich, mit Sicherheit abgetötet, wenn sie einer einstündigen Räucherung bei 2 Volumprozenten oder einer zweistündigen Räucherung bei 1 Volumprozent dieses Gases unterworfen werden. Die Versuche, über die in folgendem berichtet werden soll, beschäftigten sich mit Stechmücken; sie bezweckten, zu prüfen, in welcher Weise Cyanwasserstoff auf diese Insekten einwirkt und ob er zu ihrer Bekämpfung verwendet werden kann.[2] Bevor die Ergebnisse der Versuche mitgeteilt werden, bedarf es einiger Worte über ihre Anordnung und über die Beschaffung des nötigen Tiermaterials.

### Versuchsanordnung und Tiermaterial.

In dieser Zeitschrift, Bd. LXXXIII, S. 450 bis 453, ist eingehend beschrieben worden, in welcher Weise Blausäure entwickelt werden kann. Als Ausgangsmaterial diente Cyannatrium (NaCN) von etwa 95 Prozent (= 129 Prozent bezogen auf Cyankalium). Die verwendeten Blausäure-

[1] E. Teichmann, Entlausung durch Cyanwasserstoff. *Deutsche medizinische Wochenschrift*. 1917. Nr. 10. — Cyanwasserstoff als Mittel zur Entlausung. *Diese Zeitschrift*. 1917. Bd. LXXXIII. S. 449 bis 466.

[2] Vgl. auch E. Teichmann, Ein neues Mittel zur Bekämpfung der Stechmücken. *Münchener medizinische Wochenschrift*. 1917. Nr. 32. S. 1041 f.





mengen wurden nach Volumprozenten berechnet.[1] Es könnte wünschenswert erscheinen, auch das Gewicht derselben zu kennen; aus den in der zitierten Arbeit gemachten Angaben läßt sich dieses leicht ergänzen. Da nämlich 1 cdm Blausäure 1·2096 g wiegt, so sind bei 1 Volumprozent in jedem Kubikmeter 12·096 g des Gases vorhanden. In folgendem wird der Anzahl der Volumprozente jedesmal auch das Gewicht der verwendeten Blausäure pro Kubikmeter beigefügt werden. Der in der früheren Arbeit gegebenen Beschreibung der Versuchsanordnung ist im übrigen nichts hinzuzusetzen. Dagegen bedarf es einiger Mitteilungen darüber, wie das tierische Versuchsmaterial beschafft wurde. Larven und Puppen von Stechmücken (Culex annulatus und Culex pipiens), die ja während des Sommers in beliebigen Mengen erhältlich sind, wurden in Glasgefäße gebracht, so daß diese etwa zu drei Vierteln mit Wasser gefüllt waren. Die Gefäße wurden sodann in Behälter gesetzt, in denen sich die ausschlüpfenden Mücken fingen. Diese Behälter bestanden aus leichten Holzgestellen in Würfelform, die mit Mull (Moskitogaze) überspannt waren. An einer Seite war an Stelle der Überspannung ein offener Beutel aus Mull angebracht, der mit einer Struppe zum Schließen versehen war. Durch die Öffnung des Beutels konnten Gläser mit Larven ohne Schwierigkeit in das Innere der Behälter gebracht werden, worauf die Struppe zugezogen und der Behälter somit geschlossen wurde. Diese Behälter hatten einen Inhalt von 64 cdm. Außer solchen stand noch ein anderer zur Verfügung, der mit ein gen hier nicht in Betracht kommenden Änderungen nach dem von R. O. Neumann und M. Mayer angegebenen Vorbild hergestellt worden war, und dessen Rauminhalt 75 cdm betrug.[2] War nun die wünschenswerte Anzahl von Imagines ausgeschlüpft, so wurden die Glasgefäße mit den noch übrigen Larven und Puppen durch die Öffnung des Beutels aus den Behältern entfernt, und diese wieder geschlossen. Es geht hierbei nicht ohne Verluste an Mücken ab, indem einige von ihnen ins Freie entkommen; bei zweckmäßigem Vorgehen läßt sich aber deren Zahl auf ein ganz Geringes beschränken. Lagen tote Imagines auf dem Boden des Behälters, so wurden sie vor Ausführung des Versuches beseitigt, was ohne Schwierigkeit zu bewerkstelligen ist. Fast immer waren schon 24 Stunden, nachdem die Gefäße mit Larven und Puppen in die Behälter hineingestellt worden waren, für den Versuch hinreichende Mengen von Imagines vorhanden.

[1] Auf S. 452, Zeile 15 von oben muß es, wie ja aus dem Vorhergehenden ersichtlich ist, cbm statt ccm heißen.

[2] R. O. Neumann und Martin Mayer, *Atlas und Lehrbuch wichtiger tierischer Parasiten und ihrer Überträger.* S. 224. J. F. Lehmanns Verlag, München. 1914.



## Räucherungsversuche mit Imagines von Culex.

Die Versuche wurden teils in einem Digestorium von 2 cbm, teils in einem Raum von 52·7 cbm Inhalt ausgeführt.

Die Versuche im Digestorium sollten Aufschluß darüber geben, welche Konzentration des Gases und welche Einwirkungsdauer nötig ist, um Stechmücken mit Sicherheit zu töten. Zu diesem Zweck wurde ein Behälter mit Mücken auf den Boden des Versuchsraumes gestellt, die Blausäure zur Entwicklung gebracht und der sorgfältig abgedichtete Raum sofort geschlossen. Schon nach wenigen Minuten lagen meistens alle Mücken bewegungslos am Boden. Der Versuchsraum wurde in fast allen Fällen 15 Minuten nach Beginn der Räucherung geöffnet, das Gas zum Abzug gebracht, die Mückenbehälter aus dem Raum herausgenommen und 1 Stunde lang einer kräftigen Lüftung unterworfen. Danach wurden die Mücken einzeln geprüft. Reagierten sie auf Berührung mit der Pinzette durch keine auch noch so schwache Bewegung, so wurden sie als tot betrachtet. Fanden sich solche, die, wenn auch nur leise, Bewegungen ausführten, so wurden sämtliche Mücken zur weiteren Beobachtung auf 24 Stunden in ein weites Glasgefäß gebracht. Die folgende Tabelle gibt Aufschluß über Einzelheiten und Verlauf der Versuche.

Tabelle I.

| Nr. des Versuchs | Stechmücken | | Cyanwasserst. | | Dauer d. Räucherung in Minuten | Ergebnis der Räucherung | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Art | Anzahl | nach Vol. % | nach Gew. in Gramm u. pro cbm | | 15 Minuten nach Beginn | | 1 Stunde nach Schluß | | 24 Stunden nach Schluß | |
| | | | | | | leblos | lebend | leblos | lebend | leblos | lebend |
| 1 | Culex annulatus | 330 | 0·5 | 6·048 | 15 | 330 | 0 | 330 | 0 | — | — |
| 2 | „ „ | 165 | 0·25 | 3·024 | 15 | 165 | 0 | 165 | 0 | — | — |
| 3 | „ „ | 285 | 0·10 | 1·2096 | 15 | 285 | 0 | 285 | 0 | — | — |
| 4 | „ „ | 160 | 0·05 | 0·6048 | 15 | 160 | 0 | 160 | 0 | — | — |
| 5 | „ „ | 475 | 0·02 | 0·2419 | 15 | 470 | 5 | 475 | 0 | — | — |
| 7 | „ „ | 504 | 0·01 | 0·1209 | 15 | 502 | 2 | 417 | 87 | — | — |
| 8 | „ „ | 1012 | 0·01 | 0·1209 | 30 | 1012 | 0 | 982 | 30 | 941 | 71 |
| 9 | Culex pipiens | 350 | 0·02 | 0·2419 | 15 | 350 | 0 | 349 | 1 | — | — |
| 10* | „ „ | 350 | 0·05 | 0·6048 | 15 | 350 | 0 | 350 | 0 | — | — |
| 11* | „ „ | 855 | 0·025 | 0·3024 | 15 | 855 | 0 | 855 | 0 | — | — |

* Unvollkommene Abdichtung des Versuchsraumes.

Aus der vorstehenden Übersicht geht hervor, daß Culiciden getötet werden, wenn sie sich $^1/_4$ Stunde lang in einer Atmosphäre aufzuhalten







gezwungen werden, die mindestens 0·02 Volumprozente (= 0·2419 g pro Kubikmeter) Cyanwasserstoff enthält. Diese Konzentration stellt die untere Grenze vollkommener Wirksamkeit des Gases für diese Stechmücken dar. Der Versuch Nr. 5 zeigt, daß selbst in solchen Fällen, wo die Vergiftung nicht innerhalb des Zeitraums der unmittelbaren Einwirkung des Gases den Tod herbeiführt, dieser doch noch in deren Folge eintreten kann. Immerhin ist mit der Konzentration von 0·02 Volumprozent die äußerste Grenze erreicht, bei der noch auf sichere Abtötung aller Individuen gerechnet werden kann. Wird diese Grenze um ein Geringes nach unten überschritten, so entgeht ein erheblicher Teil der Stechmücken der Vernichtung. Der Versuch Nr. 7 läßt erkennen, daß zwar auch bei einer Konzentration von 0·01 Volumprozent (= 0·1209 g pro Kubikmeter) der weitaus größte Teil der Mücken der Vergiftung erliegt, wenn das Gas $^1/_4$ Stunde auf sie einwirkt, daß aber doch nicht wenige der Tiere aus der Betäubung erwachen und wieder zum Leben zurückkehren. 1 Stunde nach Beendigung der Vergasung konnten sich etwa 17 Prozent der Versuchsmücken wieder bewegen; von diesen waren einige schon 30 Minuten nach Schluß der Räucherung wieder vollkommen flugfähig gewesen. An diesem Ergebnis änderte sich wenig, wenn die Blausäure statt 15 Minuten $^1/_2$ Stunde auf die Mücken einwirken konnte. Versuch Nr. 8 zeigt, daß auch dann noch fast 3 Prozent der Mücken innerhalb 1 Stunde und 7 Prozent innerhalb 24 Stunden wieder zu sich kamen. Von diesen wurden allerdings nur wenige, nämlich etwa 11 Prozent oder 0·8 Prozent aller behandelten Tiere, wieder flugfähig; die anderen vermochten die Folgen der Vergiftung nicht dauernd zu überwinden. Es verdient erwähnt zu werden, daß von den 71 Mücken, die der Wirkung des Gases mehr oder weniger kräftig widerstanden, 69 Weibchen und 2 Männchen waren, woraus vielleicht auf eine größere Widerstandsfähigkeit jener geschlossen werden darf.

Die beiden Versuche Nr. 10 und Nr. 11 wurden ausgeführt, um zu prüfen, wieweit die Wirkung der Blausäure auf Stechmücken reicht, wenn der Raum, in dem sie sich aufhalten, nur unvollkommen abgedichtet wird, so daß ein erheblicher Teil des Gases während der Räucherung entweichen kann. Zu diesem Zwecke blieb die obere, zum Abzugsschacht führende Tür, die 14 cm im Geviert mißt, offen stehen. Die Gaskonzentration wurde zunächst wegen des zu erwartenden Verlustes auf 0·05 Volumprozent (= 0·6048 g HCN pro Kubikmeter) verstärkt. Es ergab sich, daß trotz der unvollkommenen Abdichtung keine einzige der 350 Mücken dem Tode entging; alle lagen nach 15 Minuten leblos am Boden und auch nach einstündiger Lüftung war durch Be-



rührung bei keiner die geringste Bewegung auszulösen. An diesem Ergebnis änderte sich nichts, als nun die Konzentration auf 0·025 Volumprozent (= 0·3024 g HCN pro Kubikmeter) herabgesetzt wurde. Obgleich auf diese Weise die zur sicheren Abtötung der Mücken noch hinreichende Blausäuremenge nur um $^1/_{200}$ Volumprozent (= 0·0605 g HCN pro Kubikmeter) überschritten wurde, und auch diesmal die Türe zum Abzugsschacht offen blieb, entging von 855 Culices keine dem Tode. Hieraus ist zu schließen, daß selbst in Fällen, wo mit nicht unerheblichen Verlusten an Blausäure während der Räucherung gerechnet werden muß, doch ein befriedigendes Ergebnis erzielt werden wird, wenn die Konzentration des Gases um ein Geringes über die unbedingt nötige Stärke erhöht wird. Offenbar wird die Blausäure von den Stechmücken mit großer Schnelligkeit eingeatmet und wirkt, einmal in den Körper aufgenommen, nachhaltig fort, so daß die dadurch gesetzte Schädigung nicht mehr ausgeglichen werden kann, selbst wenn die umgebende Luft kurze Zeit, nachdem das Gas zur Entwicklung gekommen ist, nur noch Spuren desselben enthält. Daß bei der beschriebenen Versuchsanordnung ein erheblicher Teil des Cyanwasserstoffs entwich, war daran zu erkennen, daß nur noch ein ganz schwacher Blausäuregeruch wahrzunehmen war, wenn der Versuchsraum 15 Minuten nach Beginn der Gasentwicklung geöffnet wurde. Die Auffassung, daß also Blausäure bei Stechmücken eine Art Schockwirkung ausübt, wird durch einen Versuch gestützt, bei dem die Einwirkungsdauer auf wenige Minuten herabgesetzt wird. Bei dem Versuch Nr. 15 wurden 107 Culex pipiens der Einwirkung von 0·1 Volumprozent (= 1·2096 g HCN pro Kubikmeter) ausgesetzt. Fast unmittelbar, nachdem die Entwicklung der Blausäure beendet war, nämlich 1 bis 2 Minuten nach Beginn des Versuches, lagen sämtliche Mücken ohne Bewegung auf dem Boden der Behälter. Sie wurden 5 Minuten nach Beginn der Räucherung aus dem Versuchsraum herausgenommen und sofort kräftiger Lüftung unterworfen. Trotzdem zeigte keine während der nächsten 4 Stunden die geringsten Bewegungen; sie waren sämtlich sofort verendet.

Was die im Digestorium ausgeführten Versuche ergaben, wurde im allgemeinen durch Versuche bestätigt, die in einem Raum von 52·7 cbm Inhalt unternommen wurden. Dabei wurden drei Behälter mit Stechmücken in der Art auf den Raum verteilt, daß der eine auf den Boden desselben gestellt, der zweite in mittlerer Höhe und der dritte unmittelbar unter der Zimmerdecke angebracht wurde. Tabelle II gibt einen Überblick über Einzelheiten der Anordnung und der Ergebnisse.



Tabelle II.

| Nr. des Versuchs | Stechmücken: Art | Stechmücken: Anzahl | Cyanwasserst.: nach Vol. % | Cyanwasserst.: nach Gew. in Gramm u. pro cbm | Dauer d. Räucherung in Minuten | 15 Minuten nach Beginn: leblos | 15 Minuten nach Beginn: lebend | 1 Stunde nach Schluß: leblos | 1 Stunde nach Schluß: lebend | 24 Stunden nach Schluß: leblos | 24 Stunden nach Schluß: lebend |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 12* | Culex pipiens | 566 | 0·02 | 0·2418 | 15 | 566 | 0 | 548 | 18 | 545 | 21 |
| 13 | Culex pipiens und annulatus | 1754 | 0·02 | 0·2418 | 15 | 1754 | 0 | 1721 | 33 | 1715 | 39 |
| 14 | Desgl. | 593 | 0·03 | 0·3627 | 15 | 593 | 0 | 593 | 0 | 593 | 0 |

* Unvollkommene Abdichtung des Versuchsraumes.

Aus den Versuchen Nr. 12 und Nr. 13 geht hervor, daß bei einer Einwirkungsdauer von 15 Minuten und einer Konzentration von 0·02 Volumprozent (= 0·2418 g HCN pro Kubikmeter) auf einen vollen Erfolg wie bei den entsprechenden Versuchen im Digestorium nicht mit Sicherheit zu rechnen ist. Bei Versuch Nr. 12 war das Fenster des Versuchsraumes absichtlich nur angelehnt worden, so daß ein Spalt offen blieb, durch den Gas abziehen konnte. Diesem Umstand mußte es zunächst zugeschrieben werden, daß etwa 3·7 Prozent der Versuchstiere der sofortigen Abtötung entgingen, von denen 29 Prozent oder etwas mehr als 1 Prozent der Gesamtzahl der behandelten Mücken flugfähig wurden. Aber auch wenn Gasverluste durch sorgfältige Abdichtung möglichst vermieden wurden, erlagen nicht alle Mücken innerhalb der Räucherungszeit dem Gifte; 2·3 Prozent derselben erwiesen sich in den 24 Stunden, die dem Schluß der Räucherung folgten, befähigt, Bewegungen auszuführen, und von diesen waren wiederum nicht weniger als 64 Prozent oder 1·5 Prozent sämtlicher behandelter Mücken imstande, zu fliegen, waren also der Abtötung endgültig entgangen. Hiernach mußte die Blausäurekonzentration verstärkt werden. Versuch Nr. 14 zeigt, daß eine Erhöhung derselben um $^1/_{100}$ Volumprozent ausreichte, um sämtliche Mücken innerhalb der Räucherungsdauer von 15 Minuten zu vernichten. Handelt es sich also darum, größere Räume zu vergasen, bei denen die Abdichtung naturgemäß nicht so vollkommen gestaltet werden kann wie bei einem Digestorium, so ist es rätlich, 0·03 Volumprozent Blausäure (= 0·3627 g pro Kubikmeter) $^1/_4$ Stunde auf die Stechmücken einwirken zu lassen. Bei diesem Verfahren wird auf einen vollen Erfolg mit Sicherheit gerechnet werden dürfen.

Es liegt nahe, die hier erhaltenen Ergebnisse mit jenen zu vergleichen, die mit Läusen erzielt wurden. Läuse und Nissen können mit



Sicherheit abgetötet werden, wenn sie einer zweistündigen Räucherung bei 1 Volumprozent oder einer einstündigen Räucherung bei 2 Volumprozent Cyanwasserstoff unterworfen werden.[1] Wird das Produkt aus Expositionszeit ($T$) und Anzahl der Volumprozente ($N$) als Wirkungsgrad der Räucherung ($J$) bezeichnet, so muß dieser für Läuse = 2 sein, wenn deren Vernichtung erreicht werden soll. Für Stechmücken berechnet sich $J$ unter Zugrundelegung der Digestoriumversuche auf $0 \cdot 02 \times 0 \cdot 25 = 0 \cdot 005$. Diese Insekten sind demnach 400 mal empfindlicher gegen Cyanwasserstoff als Läuse. Das ist in der Tat ein hoher Empfindlichkeitsgrad. Leider stehen bisher keine aus Versuchen mit anderen Organismen gewonnenen Daten zum Vergleich zur Verfügung. Nur für Mäuse wurden im Laufe dieser Untersuchungen einige gelegentliche Beobachtungen gemacht, die hier wohl mitgeteilt werden dürfen. Danach sind diese Tiere imstande, die Blausäurekonzentration von 0·02 Volumprozent (= 0·2418 g HCN pro Kubikmeter), die für Stechmücken tödlich ist, $^1/_4$ Stunde lang zu ertragen. Sie reagierten auf das Gift zunächst dadurch, daß sie aufgeregt in ihrem Glase umherliefen; dann wurden ihre Bewegungen langsamer, sie fielen schließlich auf die Seite und blieben so fast unbeweglich liegen, indem sie nur noch mühsam atmeten. Als ihnen aber nach 15 Minuten frische Luft zugeführt wurde, begannen sie schleuniger zu atmen, sich wieder aufzurichten und langsam umherzukriechen; nach 24 Stunden machten sie einen völlig normalen Eindruck, und es schien keine Schädigung zurückgeblieben zu sein. Sie blieben denn auch dauernd am Leben. Demgegenüber erlagen Mäuse einer Gaskonzentration von 0·5 Volumprozent (= 6·048 g HCN pro Kubikmeter) bereits nach kurzer Zeit: 8 Minuten nach Beginn der Räucherung waren die Tiere völlig bewegungslos; sie wurden nach 1 Stunde an die frische Luft gebracht, kamen jedoch nicht wieder zu sich. Immerhin sind Mäuse auch hiernach gegen Blausäure erheblich widerstandsfähiger als Mücken. Denn diese erliegen bereits innerhalb 5 Minuten dem Gift bei einer Konzentration desselben von nur 0·1 Volumprozent (= 1·2096 g HCN pro Kubikmeter), wie aus Versuch Nr. 15 hervorgeht.

Abschließend darf also gesagt werden, daß Imagines von Culex annulatus und Culex pipiens einen sehr hohen Grad von Empfindlichkeit gegen Cyanwasserstoff zeigen. Bei einer Räuche-

[1] Vgl. E. Teichmann, *Diese Zeitschrift.* Bd. LXXXIII. S. 453 ff. — Versuche, die auf Veranlassung der Medizinal-Abteilung des Preußischen Kriegsministeriums von Oberstabsarzt Bähr und Professor Dr. Hase in der Sanierungsanstalt Sosnowice im Großen zur Nachprüfung meiner Ergebnisse angestellt wurden, haben diese, wie der mir übersandte Bericht zeigt, in allen wesentlichen Punkten bestätigt.



rungsdauer von 15 Minuten erliegen sie ausnahmslos dem Gifte, wenn dieses in einer Stärke von 0·02 Volumprozent (= 0·2418 g HCN pro Kubikmeter) bei kleinen, gut abdichtbaren oder 0·03 Volumprozent (= 0·3627 g HCN pro Kubikmeter) bei großen, weniger vollkommen abgedichteten Räumen auf sie einwirkt.

## Praktische Bedeutung der Versuchsergebnisse.

Unsere heimischen Culiciden kommen als Überträger menschlicher Krankheiten, soviel bekannt ist, nicht in Betracht. Dagegen bilden sie in vielen Gegenden eine für den Menschen außerordentlich lästige Plage. Auf der anderen Seite ist festgestellt, daß auch unter den bei uns vorkommenden Culiciden solche vorhanden sind, die für die Übertragung von protozoischen Parasiten auf Tiere verantwortlich zu machen sind. Es sei nur daran erinnert, daß Culex pipiens und Culex nemorosus das sogenannte Proteosoma, den Erreger der Vogelmalaria (= Plasmodium praecox), übertragen können. Weit einschneidender ist die Rolle, die ausländische Culiciden in der menschlichen Krankheitsgeschichte spielen. Es sind insbesondere tropische und subtropische Krankheiten, deren Erreger von Culiciden übertragen werden können. Hier sind die verschiedenen Filariosen (Filaria bankrofti, Acanthocheilonema perstans, Filaria demarquayi) zu nennen, unter deren Überträgern die Culiciden Culex fatigans und Culex fasciatus (= Stegomyia fasciata oder calopus)[1] angeführt werden. Culex fasciatus (= Stegomyia fasciata oder calopus) ist überdies als Überträger des Gelbfiebers zu betrachten. In diesem Zusammenhang müssen ferner die nächsten Verwandten der Culiciden, nämlich Psychodiden und Anopheliden, erwähnt werden. Zur Familie der Psychodiden gehört die Gattung Phlebotomus mit einer Anzahl Arten, von denen die wichtigste Phlebotomus papatasii ist. Diese Mücke überträgt das in den Mittelmeerländern herrschende Papatacifieber und vielleicht auch das im Mittelmeergebiet, in Afrika und in Asien verbreitete Denguefieber. Was schließlich die Anopheliden anlangt, so umfaßt diese Familie die Gattung Anopheles, deren zahlreiche, über die ganze Erde verbreitete Arten als Überträger der menschlichen Malaria in ihren drei Formen (Tertiana, Quartana und Tropica oder Perniciosa) eine höchst unheilvolle Rolle spielen.

[1] Zur Systematik der Stechmücken vgl. A. Eysell, *Handbuch der Tropenkrankheiten*. Herausgegeben von C. Mense. Bd. I. S. 111 ff. II. Aufl. Leipzig, J. A. Barth, 1913.



Daß die Bekämpfung aller dieser Stechmücken hygienisch von allergrößter Bedeutung ist, liegt auf der Hand. Es fragt sich nun, ob eine solche durch Räucherung mit Cyanwasserstoff Aussicht auf Erfolg haben kann. Am übersichtlichsten liegen die Verhältnisse bei den heimischen Culiciden. Seit Jahren werden in Deutschland erhebliche Mittel aufgewandt, um die „Schnakenplage" zu mildern. Dabei wird in der Weise verfahren, daß sich die zur Vernichtung der Insekten ergriffenen Maßnahmen sowohl auf die im Wasser lebende Brut (Sommerbekämpfung) als auch gegen die überwinternden Imagines (Winterbekämpfung) richten. Hier kommen nur die Imagines in Betracht. Gegen sie wird in der Hauptsache mit drei Methoden vorgegangen, die sich als Abbrennen, Abspritzen und Ausräuchern kenntlich machen lassen. Es erübrigt sich, die Ausführung dieser Maßnahmen zu schildern, da sie oft beschrieben worden sind. Einzelheiten sind in der vom Kaiserlichen Gesundheitsamt herausgegebenen Schrift „Die Mückenplage und ihre Bekämpfung"[1] zu finden. Bezüglich des Abspritzens ist insbesondere auf die Arbeiten von G. Giemsa[2] zu verweisen. Literatur findet sich bei Eysell.[3] Zur Kritik der Verfahren ist folgendes zu sagen: Das Abbrennen ist seiner Gefährlichkeit wegen nur sehr bedingt zu empfehlen; wo leicht Feuer fangende Gegenstände vorhanden sind, ist es ganz auszuschließen. Das Abspritzen in der von Giemsa empfohlenen Art hat erhebliche Vorzüge. Ihrer Anwendung im großen steht jedoch der Umstand im Wege, daß die zur Herstellung der Tinktur nötigen Ingredienzien, nämlich Pyrethrum- (echte dalmatinische oder persische Chrysanthemum-) Blüten, Methylalkohol (96prozentiger), Alkohol (96prozentiger), Glyzerin und Kaliseife (möglichst geruchfreie Ölseife) in größeren Mengen jetzt kaum zu erhalten sind. Die gegenwärtigen Kosten des Giemsaschen Verfahrens lassen sich nicht feststellen, da die in der zweiten der beiden zitierten Arbeiten aufgestellte Berechnung auf Friedenspreisen fußt, die sich inzwischen stark verteuert haben dürften. Was schließlich die bisher angewandten Räucherungen anlangt, bei denen Pulver verschiedener Zusammensetzung verbrannt werden müssen, so ist auch gegen sie der Einwand zu erheben, daß es gegenwärtig nicht leicht sein wird, die Bestandteile der Pulver (Pyrethrum, Schwefel usw.) in den nötigen Mengen aufzubringen. Dazu kommt der Nachteil der Feuergefährlichkeit. Ferner nehmen diese Räucherungen, um wirksam zu sein, lange Zeit (2 bis 3 Stunden) in Anspruch. Und schließlich müssen Gegenstände, die, wie Speisen, den Geruch oder

[1] 3. Aufl. Berlin, J. Springer, 1911.

[2] *Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene.* Bd. XV. S. 533 u. Bd. XVI. S. 565.

[3] A. a. O. S. 145 ff.



Geschmack des Räuchermittels annehmen, aus den Räumen entfernt werden. Schweflige Säure, die sich beim Verbrennen von Schwefel enthaltenden Räuchermitteln bildet, hat überdies den Nachteil, daß Metalle und Farben von ihr angegriffen werden.

Demgegenüber bietet die Räucherung mit Cyanwasserstoff nicht zu unterschätzende Vorteile. Die Blausäure wirkt, was von anderen Räuchermitteln nicht ohne Einschränkung gilt, völlig zuverlässig, wenn sie in der den gegebenen Verhältnissen entsprechenden Stärke angewendet wird. Selbst dann, wenn der zu vergasende Raum nicht so abgedichtet werden kann, wie es an sich wünschenswert ist, darf bei geringer Erhöhung der Konzentration auf einen vollen Erfolg gerechnet werden. Die Zeit, die die Räucherung erfordert, ist außerordentlich kurz; auch wenn für die nötigen Vorbereitungen, wie das Abdichten, das Abwägen des Cyannatriums, das Abmessen und Verdünnen der Schwefelsäure, reichlich Zeit gelassen wird, kann im allgemeinen die Ausführung einer Räucherung in 1 Stunde vollendet sein. Gegenstände, die sich in dem mit Schnaken besetzten Raum befinden, auch Speisen und Eßwaren erleiden durch die sich entwickelnde Blausäure keine Schädigung, brauchen mithin nicht entfernt zu werden. Metalle, Stoffe und Farben werden nicht angegriffen. Die Blausäure wird durch kräftige Lüftung in kurzer Zeit zum Abziehen gebracht; die vergasten Räume und Gegenstände können unmittelbar danach wieder in Gebrauch genommen werden.

Schnaken überwintern vor allem in Kellern, Ställen, Scheunen und Schuppen. Von diesen werden Schuppen und Scheunen oft der Abdichtung Schwierigkeiten bereiten. Hier gibt es aber Mittel, um allzu großen Gasverlusten abzuhelfen. So wird es sich unter Umständen empfehlen, derartige Baulichkeiten mit Zelttüchern zu bedecken, wie es bei der Räucherung von Obstbäumen geschieht; auf diese Weise wird der Gasverlust eingeschränkt, und das Entweichen der Schnaken ins Freie verhindert. Mit solchen Räucherzelten ließe sich übrigens auch den in Laubanhäufungen, in Stroh- und Heuschobern überwinternden Schnaken beikommen.

Das Blausäureverfahren ist infolge der geringen, für die Vernichtung der Schnaken notwendigen Mengen billig. Da eine besondere Apparatur nicht erforderlich ist, kommen außer dem Arbeitslohn und dem Abdichtungsmaterial nur die Kosten der Chemikalien in Betracht. Diese belaufen sich für 100 cbm Raum auf noch nicht einmal 20 Pfg.

Solchen Vorzügen steht als einziger Nachteil die Giftigkeit der Blausäure für den Menschen gegenüber. Dieser Umstand soll nicht unterschätzt werden. Ihm wird aber dadurch begegnet werden können, daß



dem ausführenden Personal, das selbstverständlich in der Handhabung des Verfahrens gründlich unterwiesen sein muß, die Pflicht eingeschärft wird, mit aller Vorsicht zu handeln. Überdies ist die Gaskonzentration, die zur Vernichtung der Schnaken verwendet wird, so schwach, daß sich die Gefahr einer Vergiftung auf ein Geringstmaß beschränkt. Es sei hier nochmals daran erinnert, daß sich Mäuse 15 Minuten lang in einem 0·02 Volumprozent Blausäure enthaltenden Raume aufhalten können, ohne dem Gift zu erliegen. Leider ist nichts darüber bekannt, wie groß die Mengen Cyanwasserstoff sind, die eingeatmet für den Menschen noch erträglich sind.

Nach alledem darf wohl gesagt werden, daß in der Blausäureräucherung der Winterbekämpfung der Culiciden ein Mittel zur Verfügung steht, das den bisher angewendeten Verfahren erheblich überlegen ist. Es wird sich nun darum handeln, das bisher schon mit der Schnakenbekämpfung betraute Personal in der sicheren Handhabung und zweckentsprechenden Anwendung des Verfahrens auszubilden. Es kann nicht ausbleiben, daß sich hierdurch die Winterbekämpfung der Schnaken noch wirksamer durchführen läßt, als es bisher schon der Fall war.

Ungleich größere Bedeutung würde aber dem Blausäureverfahren zukommen, wenn es sich als ein Mittel erwiese, das für die Bekämpfung der Krankheiten übertragenden Stechfliegen taugt. Es fragt sich zunächst, ob die Ergebnisse, die aus Versuchen mit heimischen Culiciden gewonnen werden, für ausländische Culexarten, insbesondere Culex fatigans und Culex fasciatus (= Stegomyia fasciata oder calopus), sodann aber auch, ob sie für Phlebotomus und vor allem für Anopheles als stichhaltig betrachtet werden dürfen. Was die ausländischen Culiciden anlangt, so kann mit einer an Gewißheit grenzenden Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß sie der Einwirkung von Blausäure ebenso zugänglich sind, wie es für Culex annulatus und Culex pipiens, die in dieser Hinsicht keinen Unterschied erkennen ließen, durch die mitgeteilten Versuche festgestellt wurde. Es ist aber auch sehr wahrscheinlich, daß sich Phlebotomus und Anopheles nicht wesentlich anders verhalten werden. Denn diese Stechmücken stehen ihrer ganzen Organisation nach den Culiciden außerordentlich nahe. Immerhin würde es wünschenswert sein, den experimentellen Beweis hierfür zu erbringen, indem entsprechende Versuche an Orten ausgeführt werden, wo diese Stechmücken zur Verfügung stehen.

Eine andere Frage ist es, ob die Lebensweise der ausländischen Culiciden, der Phlebotomen und der Anophelen die Anwendung von Räucherungen in derselben Weise begünstigt, wie es für die heimischen

Schnaken gilt. Von der Lebensweise des Phlebotomus geben R. Doerr und V. Russ[1] eine eingehende Schilderung, die in einigen Punkten von R. O. Neumann und M. Mayer[2] ergänzt wird. Danach werden überwinternde Imagines niemals angetroffen. Vielmehr geht die Überwinterung im Larvenstadium vor sich. Larven werden dort gefunden, wo organisches Material und zersetzte Stoffe, mit lockerer Erde gemischt, vorhanden sind, wie es in Kellern, Senkgruben und Abortfallröhren zutrifft. In heißen, windstillen Sommernächten verlassen die Imagines ihre Brutplätze und dringen in Schwärmen in Wohnräumen ein; sobald es zu tagen beginnt, suchen sie dunkle Stellen der Zimmer, Keller, Gewölbe oder finstere Korridore auf und verharren hier in völliger Ruhe; andere kehren zu ihren Brutplätzen zurück. Hiernach kämen der Winterbekämpfung der Schnaken entsprechende Maßnahmen gegen Phlebotomen nicht in Betracht. Dagegen scheint ein Vorgehen gegen sie während des Sommers (Mai bis November) nicht aussichtslos, da sie sich dann mit Vorliebe in geschlossenen Räumen aufhalten, wo sie leicht durch Räucherungen vernichtet werden könnten. Würden diese häufig genug vorgenommen, so ließe es sich vielleicht erreichen, die Wohn- und Schlafräume dauernd von den Mücken frei zu halten. Damit aber wäre viel erreicht. Denn die Phlebotomusweibchen stechen nur ausnahmsweise bei Tage und im Freien, überfallen vielmehr ihre Opfer des Nachts und in geschlossenen Räumen.

Während bei Phlebotomen die von der unserer heimischen Culiciden abweichende Lebensweise eine andersartige Anwendung der Blausäureräucherung bedingt, treffen für ausländische Culiciden und für Anopheliden im wesentlichen dieselben Verhältnisse zu, die der Winterbekämpfung der Schnaken zugrunde liegen. Ganz allgemein läßt sich sagen, daß Culex- und Anophelesweibchen eine Ruhezeit durchmachen, die sich in unseren Breiten mit dem Winter, in den Tropen mit der regenlosen Jahreszeit deckt. Während dieser Zeit halten sich die befruchteten Weibchen mit Vorliebe in geschlossenen und geschützten Räumen, wie Ställen, Kellern, Scheunen, Eingeborenenhütten usw., auf. Dort sitzen sie bewegungslos an den Wänden und sind daher für Räucherungen bequem zu erreichen. Eine willkommene Ergänzung unserer Kenntnisse über die Ruheperiode der Stechmücken bieten die Angaben, die sich bei Blau[3] finden. Dieser Autor berichtet, daß in Rußland und

[1] *Handbuch der Tropenkrankheiten.* Herausgegeben von C. Mense. II. Aufl. Bd. I. S. 270 ff.

[2] A. a. O., S. 212 f.

[3] Blau, Die planmäßige Insektenbekämpfung bei den Russen. *Diese Zeitschrift.* Bd. LXXXIII. S. 372 ff.

wohl im Osten Europas überhaupt die Anophelen vorzugsweise in den geschützten und milde erwärmten Hausteilen unter dem Strohdach der Bauernhäuser und in den zu ebener Erde liegenden oder halbstöckigen Heuschobern überwintern, die als Nachtunterkünfte dienen. Auch an solchen Stellen sind Räucherungen unter Berücksichtigung der bereits angegebenen Hilfsmittel ohne besondere Schwierigkeit ausführbar. Hier wie bei den Eingeborenenhütten in den Tropen wird es im wesentlichen darauf ankommen, durch geeignete Einrichtungen allzu große Gasverluste zu vermeiden.

Es bedarf nicht vieler Worte, um die Bedeutung hervorzuheben, die der Blausäureräucherung zukäme, wenn sie mit Erfolg im Kampfe gegen die Krankheiten, insbesondere Malaria übertragenden Stechmücken angewandt werden könnte. Es sei aber erlaubt, zum Schluß noch besonders darauf hinzuweisen, daß sich auch Deutschland keineswegs ganz außerhalb der Gefahren befindet, die von diesen Insekten drohen. In den letzten Jahrzehnten hat freilich die Malaria für die Gesundheit unseres Volkes eine geringe Rolle gespielt. Das kann sich jedoch leicht ändern. Blau[1] urteilt darüber wie folgt: „Der Krieg wird hierin eine unausbleibliche Verschiebung herbeiführen. Denn nicht nur wir selbst befinden uns mit einem großen Teil unseres Heeres in malariagefährdetem Gebiet, sondern es stehen uns auch an allen Fronten Eingeborene verschiedener Tropenländer gegenüber, und endlich hegen wir in unseren Gefangenenlagern mit Wahrscheinlichkeit auch solche Farbige in beträchtlicher Anzahl, die früher Malaria durchgemacht haben und vielleicht noch Plasmodienträger sind. In gleicher Weise können auch europäische heimkehrende Rekonvaleszenten eine Gefahr für die Heimat bilden, wenn Stechmücken von ihnen die Keime auf Gesunde verschleppen.“ Es kann nicht früh genug auf diese Verhältnisse Rücksicht genommen werden, zumal Anopheles in Deutschland, insbesondere im Süden und Südwesten, häufiger vorzukommen scheint, als es im allgemeinen angenommen wird.[2] Dies geschieht aber gewiß am besten in der Art, daß der Kampf gegen die übertragenden Stechmücken so nachdrücklich wie möglich geführt wird. Dazu mitzuhelfen, dürfte das Cyanwasserstoffverfahren berufen sein.

---

[1] A. a. O., S. 373.

[2] Vgl. Th. v. Wasielewski, Pathogene tierische Parasiten. Taf. XXVII. *Handbuch der Hygiene.* Herausg. von M. Rubner, M. v. Gruber und M. Ficker. Bd. III. Abtlg. 3. S. Hirzel, Leipzig 1913 und P. Sack, Aus dem Leben unserer Stechmücken. *42. Bericht der Senkenberg. Naturf. Gesellschaft.* Heft 4. 1911. S. 309 bis 322.

## Nachtrag.

### Die Wirkung von Cyanwasserstoff auf Anopheles.

Die vorstehende Arbeit wurde der Schriftleitung im Juni dieses Jahres übersandt; die Korrekturbogen gingen mir Mitte September zu. In der Zwischenzeit hatte ich Gelegenheit, die Wirkung der Blausäure auf Anopheles zu erproben, worüber im folgenden kurz berichtet werden soll. Auf meine vorläufige Mitteilung über „Ein neues Mittel zur Bekämpfung der Stechmücken“[1] machte mich nämlich Herr Dr. A. Weinland, Oberarzt an der Kgl. Heilanstalt Schussenried in Württemberg brieflich darauf aufmerksam, daß Anopheles in der dortigen Gegend sehr häufig gefunden wird. Ich entschloß mich daher, mich dorthin zu begeben, um, wenn möglich, durch den Versuch festzustellen, wie sich diese Stechmücke gegen Cyanwasserstoff verhält. Die Ausführung meiner Arbeit wurde mir dadurch ermöglicht, daß mir der Vorsteher der Kgl. Heilanstalt, Herr Medizinalrat Dr. Gross, in liebenswürdigster Weise geeignete Arbeitsräume zur Verfügung stellte. Bei dem Aufsuchen und dem Fang der Anophelen hatte ich mich der immer bereitwilligen, tatkräftigen und sachkundigen Unterstützung des Herrn Dr. Weinland zu erfreuen. Beiden Herren möchte ich auch an dieser Stelle für die vielfachen Beweise freundlichen Interesses herzlichsten Dank sagen.

In Württemberg ist, wie ich aus eigenen Beobachtungen und aus der Literatur[2] entnehmen muß, Anopheles viel weiter verbreitet und zahlreicher als im allgemeinen bekannt sein dürfte. Die durch den Krieg herbeigeführte Gefahr, daß die seit einigen Jahrzehnten in der dortigen Gegend erloschene Malaria wieder auflebt, ist mithin durchaus nicht gering, und es ist nur zu begrüßen, daß die württembergischen Medizinalbehörden sich auf eine energische Bekämpfung der Anophelen vorbereiten. Es wurde mir gesagt, daß heuer zu Anfang der warmen Jahreszeit an manchen Orten Anopheles zahlreicher auftrat als Culex. Gegen das Ende dieses Sommers nahm ihre Zahl diesem gegenüber ab. Immerhin habe ich noch Anfang September Anopheles an den drei auf ihr Vorkommen geprüften

[1] *Münchener med. Wochenschrift.* 1917. Nr. 32. S. 1041f.

[2] Hierzu sind insbesondere die Aufsätze zu vergleichen, die im 87. Band des „*Medizinischen Correspondenz-Blattes des Württembergischen ärztlichen Landesvereins*“ erschienen sind, von denen folgende erwähnt seien: Olpp, Praktisches über Moskiten- und Malaria-Bekämpfung S. 71f. und S. 84f; R. Rembold, Die Schnakenbekämpfung im Winter S. 95; Rückle, Bemerkungen zu dem Aufsatz von Herrn Prof. Dr. Gasper über die „Bekämpfung der Schnakenplage“ S. 112; Rückle, Zur Anophelesfrage S. 245; v. Rembold, Zur Malariagefahr für Württemberg S. 271; Olpp, Über die Moskiten im Tübinger Bezirk S. 337f.



Orten, nämlich in Schussenried, in Kappel und in Ochsenhausen in ziemlich großen Mengen feststellen können. Ich fand sie in Pferde,- Kuh-, Schweine- und Hühnerställen, vereinzelt auch in von Menschen bewohnten Räumen; in einem Kuhstall z. B. wurden im Laufe einer Stunde 150 Stück gefangen. Sie saßen meist an der Decke an vor Luftzug geschützten Stellen und waren schon von weitem leicht von Culex zu unterscheiden, da ihr Körper fast senkrecht zur Decke stand, so daß sie von unten gesehen stark verkürzt erschienen, während Culex die ganze Rückenseite den Blicken darbot. Sie ließen sich in der bekannten Weise, indem ein Glasröhrchen schnell über sie gestülpt wird, leicht fangen, da sie meist voll Blut gesaugt in träger Ruhe verharrten. Bei weitem die Mehrzahl der in den Ställen gefangenen Anophelen war weiblichen Geschlechts; Männchen wurden dort nur ganz vereinzelt gefunden. Die meisten gehörten zur Spezies Anopheles bifurcatus; daneben kam auch Anopheles maculipennis vor. Anophelesbrut habe ich nur vereinzelt gefunden. Das erklärt sich wohl aus der bereits kühlen vorgeschrittenen Jahreszeit. Doch legten gefangene Weibchen, die in einem Kasten aus Drahtgaze, dessen Boden ein Wasserbehälter bildete, gesetzt und im Zimmer gehalten wurden, zahlreiche Eier ab, die sich zu Larven entwickelten. Die Eier wurden drei Tage, nachdem die Weibchen in den Kasten gebracht worden waren, bemerkt; fünf Tage später wurden die ersten kleinen Larven entdeckt.

Mit solchen gefangenen Anophelen wurde nun ein Räucherungsversuch angestellt. In einem Kasten, dessen Decke und Boden aus Holz und von dessen vier Seiten eine aus Glas, die übrigen drei aus Drahtgaze bestanden, wurden 150 weibliche Anopheles bifurcatus gebracht; der Kasten hatte einen Inhalt von etwa 70 cdm. Die Anophelen waren am Nachmittag des dem Versuche vorhergehenden Tages in dem Rinderstall des Bauern Menz zu Kappel bei Buchau am Federsee gefangen worden; fast alle hatten, wie an dem rötlich schimmernden, prallen Abdomen zu erkennen war, kurz vorher reichlich Blut aufgenommen. Der Raum, in dem die Vergasung vorgenommen wurde, hatte einen Inhalt von 7·5 cbm. Nachdem er sorgfältig abgedichtet worden war, wurde der die Anpohelen enthaltende Behälter auf einen Stuhl in diesem Raum gestellt. Das Vergasungsgefäß befand sich am Boden. Es wurden 0·03 Volumprozent (=0·3627 g HCN pro Kubikmeter) Cyanwasserstoff entwickelt und 15 Minuten auf die Insekten einwirken lassen. Nach Schluß der Räucherung waren alle Anopheles ohne Bewegung. Nach $4^1/_2$ Stunden wurden sie aus dem Kasten herausgenommen und in ein Gefäß übertragen, das mit einem Deckel aus Drahtnetz bedeckt wurde. Am folgenden Morgen, 24 Stunden nach Schluß der Räucherung war keine Veränderung eingetreten; sämtliche



Anopheles waren der Wirkung des Cyanwasserstoffes erlegen. Der Versuch beweist, daß Anopheles ebenso empfindlich gegen Blausäure ist wie Culex.

## Zusammenfassung.

1. Stechmücken (Culex annulatus und Culex pipiens) werden mit Sicherheit abgetötet, wenn sie $^1/_4$ Stunde lang der Einwirkung von 0·02 bis 0·03 Volumprozent Blausäure (= 0·2419 bis 0·3627 g HCN pro Kubikmeter) ausgesetzt werden.

2. Ein Unterschied im Verhalten beider Arten gegen Blausäure besteht nicht.

3. Anopheles bifurcatus zeigt dieselbe Empfindlichkeit gegen Cyanwasserstoff wie Culex.

4. Die Wirkung der Blausäure auf Stechmücken vollzieht sich sehr schnell, fast plötzlich.

5. Auch bei unvollkommener Abdichtung des zu räuchernden Raumes ist bei geringer Konzentrationserhöhung des Gases die Vernichtung der Stechmücken mit Sicherheit zu erreichen.

6. Mäuse vermögen in einer 0·02 Volumprozent (= 0·02419 g HCN pro Kubikmeter) enthaltenden Blausäureatmosphäre $^1/_4$ Stunde lang zu verweilen, ohne daß der Tod eintritt.

7. Es ist anzunehmen, daß Blausäure ein taugliches Mittel nicht nur zur „Schnakenbekämpfung", sondern auch im Kampf gegen die Krankheiten übertragenden Stechmücken (Culex fatigans, Stegomyia, Anopheles, Phlebotomus) darstellt.

---

Weitere Versuche beschäftigten sich mit der Anwendung von Blausäure gegen die Brut der Stechmücken. Über ihre Ergebnisse soll in einem II. Abschnitt berichtet werden.

---

[Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch".]
(Abteilungsvorsteher: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Neufeld.)

# Kleine Beiträge zur Morphologie der Bakterien.

Von

Prof. Dr. **Zettnow**.

(Hierzu Taf. I u. II.)

---

Seit dem Erscheinen meiner Arbeit „Romanowskys Färbung bei Bakterien"[1] habe ich mich nicht wieder mit der Morphologie der Bakterien beschäftigt. Ich stand damals auf dem Standpunkt, daß die Bakterien ihrer überaus starken Färbbarkeit wegen hauptsächlich aus einer dem Chromatin ähnlichen Substanz beständen, und schlug vor, diesen Teil, der bei den gewöhnlichen Trockenpräparaten die Anilinfarben stark annimmt, als ein inniges Gemisch von Chromatin und Plasma zu betrachten, da bei großen Bakterien, z. B. den Spirillen, deutlich sich rot färbende „Chromatin"massen in dem sich blau färbenden „Entoplasma" zu beobachten seien; für den die Anilinfarben nicht annehmenden Teil, welcher erst nach Vorbehandlung mit tanninhaltigen Beizen sichtbar gemacht werden kann, schlug ich den Namen „Ectoplasma" vor.

Seit jener Zeit sind, besonders durch A. Meyer, dessen Werk „Die Zelle der Bakterien" niemand entbehren kann, der sich mit der Morphologie der Bakterien beschäftigt, sowie durch seine Schüler, unsere Kenntnisse hinsichtlich der einzelnen Bestandteile der Bakterien der Wahrheit näher gekommen; eine Anzahl von Versuchen während der letzten drei Jahre hat mir gezeigt, daß die Anschauung der Botaniker, nach welcher die Bakterienzelle im großen und ganzen den Bau einer Pflanzenzelle zeigt und nicht denjenigen eines tierischen Protisten, die richtigere ist.

---

[1] *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXX. S. 1.





Da Photogramme von Bakterien, welche Einzelheiten ihres Leibes zeigen, bis jetzt nicht veröffentlicht sind, wenn ich von den Bildern absehe, welche meiner Arbeit „Bau der großen Spirillen"[1] beigegeben sind, so hoffe ich, daß die dieser kleinen Arbeit zur Erläuterung dienenden Figuren auch einem weiteren Kreis von Bakteriologen die richtigere Anschauung vermitteln werden.

## I. Membran und Ursprung der Geißeln.

Ohne Färbung wird auch bei den großen Bakterienarten eine deutliche „Haut", wie Schimmelpilze gleicher Breite eine solche noch ziemlich gut erkennen lassen, nicht sichtbar; höchstens bei den allergrößten Schwefelbakterien kann man eine etwas dunklere Umrandungslinie erkennen (vgl. die Figg. 50, 51, 53, 54 bis 55 meiner Arbeit über den Bau der großen Spirillen sowie die Fig. 1 dieser Arbeit). Der in jungem Zustand gleichmäßig leicht grau vom etwas helleren Untergrund sich abhebende Körper ist bei scharfer Einstellung von einer in vielen Fällen gerade nur erkennbaren, in anderen von einer bedeutend stärkeren hellen Zone umgeben; bei großen Bakterien kann man durch Zusatz von etwas Löfflerblau einen bei manchen Arten kräftig hervortretenden gefärbten Teil, die „Membran", erkennen; auch färben sich in Fäden die Teilungslinien. Ein sehr gutes Objekt für einen derartigen Versuch ist Bac. tumescens, gezogen auf gewöhnlichem, von Zucker freiem Agar; er bleibt dann länger frei von Fettröpfchen und bildet in den ersten 24 Stunden sehr wenig, im Tuschepräparat kaum erkennbaren Schleim. Die Kultur dieses Bakteriums sowie eine Reihe anderer stammen aus dem Marburger Institut; ich sage auch an dieser Stelle Herrn Prof. Meyer für die freundliche Überlassung meinen verbindlichsten Dank. Die Figg. 2 bis 5 geben einige Stellen aus solchen „lebend" gefärbten Präparaten wieder; die Aufschwemmung der Bakterien in zwei großen Ösen Wasser oder 0·5 prozentiger Kochsalzlösung war mit einer sehr kleinen Öse Löfflerblau versetzt; ein Deckglas aufgelegt, mit Löschpapier abgepreßt und nach der Feststellung mit der Ölimmersion, daß das Präparat geeignet ist, mit Vaselin umrandet und hierauf photographiert. Durch einige Übung gelingt es leicht, die passende Menge Farbstoff gleich beim erstenmal hinzuzufügen; ist die Menge sehr gering, so tritt die Membran so schwach gefärbt hervor, daß sie sich nicht klar und deutlich vom Plasma abhebt; bei zu großer Menge färben sich alle Stäbchen dunkelblau; bei richtiger Abmessung

[1] *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXIV. S. 72.



erhält man ein Präparat mit vielen Stellen, wie die Figg. 2 bis 5 sie zeigen. Auffällig ist, daß einzelne Zellen eines Fadens sich blauschwarz färben, während die anliegenden oder in demselben Gesichtsfeld befindlichen hell geblieben sind. Die Vermutung, daß es sich bei den dunkelgefärbten um abgestorbene Zellen handelt, welche den Farbstoff williger aufnehmen als die lebenden, hat sich nicht bestätigt, da mit Osmium abgetötetes Material derselben Herkunft dasselbe Verhalten zeigte; nur erforderte es eine geringere Menge von Farbstoff. Man muß daher wohl annehmen, daß der physiologische Zustand der betreffenden Zelle den Grund für die Annahme der stärkeren Färbung bildet, zumal bei dieser Art etwaige Reservestoffe an Volutin, auch wenn sie in submikroskopischer Form im Plasma verteilt wären, nicht in Betracht kommen, da diese Art nur Fett als Reservestoff bildet, welches durch Methylenblau nicht gefärbt wird.

Bei großen Sarcinen, wie agilis und ureae, sind Membran und Teilungslinien gut für das Auge sichtbar zu machen, sowohl durch Methylenblau wie durch Fuchsin. So leicht sich nun auch das Auge beim Anblick eines solchen Präparates zufriedengestellt erklärt, so schwer ist es, ein klares und deutliches Bild auf der photographischen Platte zu erhalten; auf dieser heben sich auch bei verschieden langen Belichtungszeiten die Membran und die Teilungslinien so schlecht vom Leib des Coccus ab, daß ich darauf verzichte, ein Bild für die Reproduktion zu geben. In Trockenpräparaten dieser Bakterien, auch in solchen nach Aufschwemmung des lebenden Materials in 2·5 Prozent Salpeterlösung, ist es mir nicht gelungen, Membran und Teilungslinien gefärbt zu erhalten; die letzteren treten in diesen Fällen bei zarter Färbung als ungefärbte helle Linien auf, während die Membran und das Plasma in der Färbung keinen Unterschied zeigen.

Bei Spirillum volutans habe ich jetzt auf folgende Weise eine deutliche Membran nachweisen und photographieren können, wie die Figg. 12 und 13 zeigen, während es mir früher[1] nicht gelungen war, mich von dem Vorhandensein einer solchen zu überzeugen. Für den Versuch war eine Öse Material einer drei Tage alten Kultur auf gewöhnlichem, stark alkalischem Agar (3·0 Soda pro Liter) in zwei Ösen 5prozentiger Salpeterlösung eingerührt, der Ausstrich in 2 bis 3 Minuten getrocknet und in der Flamme fixiert, hierauf mittelstark mit Löfflerblau gefärbt unter Kontrolle mit dem Mikroskop, dann mit Wasser gespült, mit schwachem Jodjodkalium für 8 bis 10 Sekunden übergossen, gespült und in Wasser liegend photographiert. Durch das Jod wird das Plasma aufgehellt,

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXIV. S. 87 u. f.







während die Volutinkugeln fast schwarz werden, und die Membran als blauschwarze Linie deutlich hervortritt. Vermutlich werden sich die anderen großen Spirillen, deren Reinkulturen leider verloren gegangen sind, in gleicher Weise verhalten.

Bac. robur besitzt trotz seiner nicht geringen Größe eine sehr zarte Membran, welche, durch Methylenblau sichtbar gemacht, sich nur schlecht vom Plasma abhebt. Sie ist am ehesten bei denjenigen Stäbchen klar zu erkennen, welche sich in der Sporenbildung befinden (vgl. Figg. 6 und 7); in Trockenpräparaten tritt sie als sehr feine Linie erst nach mäßiger Beizung und Nachfärbung mit Methylviolett oder besser schwacher Silberung deutlich hervor (vgl. Figg. 8 und 9). Außer der Membran ist selbstverständlich auch die dünne Schleimschicht durch die Beizung gefärbt; die Umrandungslinien bestehen also aus zwei wahrscheinlich innig gemischten Schichten, nämlich der durch Anilinfarben allein schon sichtbar werdenden Membran und der erst durch die Beizung solche annehmenden Schleimschicht. Wenn, wie A. Meyer auf S. 154 seines Werkes andeutet, „der Schleim nicht durch Verquellung der Membran, sondern durch Ausscheidung derselben entsteht", so müssen beide innig gemischt sein; eine gesonderte Färbung der einzelnen Bestandteile erscheint also wohl nicht möglich zu sein. Meine Versuche, sowohl bei Bac. robur wie tumescens, Sarcina agilis, Spirillum volutans den Anteil zu bestimmen, welcher in solchen, mit schwacher Beize behandelten Präparaten der Schleimschicht zukommt, sind gescheitert; ebensowenig ist es mir gelungen, festzustellen, ob die Membran sich mit der Beize verbindet, also einen wesentlichen Anteil der von mir bisher als Ektoplasma angenommenen Schicht ausmacht. Die Dicke dieser Schicht beträgt bei Bac. robur 0·2 bis 0·3 $\mu$, bei tumescens 0·2 bis 0·4 $\mu$, bei Spirillum volutans, sowohl bei stark gebeizten wie ohne Beize gefärbten Präparaten, 0·2 bis 0·25 $\mu$, erreicht also fast die Grenze der Sichtbarkeit des Apochromaten, 2 mm im Hellfeld. Da das für diese Präparate verwendete Material bei der Einbettung in Tusche erkennbare Schleimhöfe nicht gezeigt hatte, ferner die stärker gesilberten Präparate klaren Untergrund zeigten, außer bei tumescens, wo eine Anzahl von Exemplaren mehr oder weniger große gelbe Höfe, von Schleim herrührend, erkennen ließen, so wird man wohl annehmen müssen, daß auch die Membran sich mit der Beize verbindet.

Bei lebenden mittelgroßen und kleinen Bakterien ist es mir nicht mit Sicherheit gelungen, durch Methylenblau allein eine Membran zu erkennen; noch weniger Erfolg hat man bei angetrockneten Präparaten. Dagegen kann man auch bei den kleinsten durch mäßige Beizung und kalte Nachfärbung mit Methylviolett oder schwache Silberung, sei es unter



sehr mäßiger Erwärmung oder während 3 bis 15 Minuten bei Zimmertemperatur, eine das Bacterium umgebende Schicht sichtbar machen, welche sich von dem nicht gefärbten Inhalt deutlich abhebt. Bei beweglichen Bakterien werden in diesem Fall die Geißeln nur ausnahmsweise sichtbar wie bei Spirillum volutans. Als Beize habe ich für diesen Zweck der gewöhnlichen Antimonbeize so viel Tannin zugesetzt, daß sie sich auch nach völligem Erkalten kaum trübt; sie wird kochend auf das Deckglas gegossen und nach 10 bis 15 Sekunden abgespült; bei einer solchen schwachen Beizung und Färbung erhält man Bilder, wie die Figg. 10, 11 und 14 solche zeigen; auch bei stärkerer Beizung ist (vgl. Figg. 15 bis 17) deutlich zu erkennen, daß das Ektoplasma bzw. die Membran und die Schleimschicht allein sich gefärbt haben, und zwar nur soweit sie nach außen freiliegen. Berühren sich zwei Exemplare, wie in Figg. 16 und 17, so fehlt die dunkle Linie an den Berührungsstellen. Die Tetrade einer Sarcine (Fig. 11) zeigt wohl die Einschnürungslinien, aber nur schwach die inneren Teilungslinien; ein Haufen dicht aneinander gelagerte Kokken zeigt meist eine je nach dem Schleimgehalt schwache oder sehr dicke, die ganze Gruppe umgebende Randlinie. Daraus muß man schließen, daß die chemische Verbindung der Beize mit dem Ektoplasma eine selbst für die Anilinfarben undurchdringliche Schicht vorstellt, so daß in geringer Tiefe liegende Schichten bei der späteren Nachfärbung eine solche nicht annehmen. Hat man das Präparat von Spir. volutans vor der Beizung kräftig mit Methylenblau gefärbt, so wird der Farbstoff durch die kochend aufgegossene, sauer reagierende Beize zum größten Teil, mitunter fast völlig aus dem Plasma verdrängt und nur von den Volutintröpfchen und dem Ektoplasma zurückgehalten, so daß man Bilder erhält, wie Fig. 14 sie zeigt; sie gleichen also den durch Plasmolyse erhaltenen Figg. 12 und 13. Färbt man ein solches Präparat mit Methylviolett kalt nach, so nimmt nur das Ektoplasma die Farbe an, falls der Ausstrich mit Material hergestellt ist, welches durch Formalin abgetötet war. Erhitzt man die Farblösung zum Kochen, so dringt sie an einzelnen Stellen durch die gebeizte Schicht und färbt auch das Plasma intensiv; man kann dann in demselben Gesichtsfeld nebeneinander Exemplare beobachten, bei welchen das Methylviolett an zwei bis drei Stellen eben eingedrungen ist und einen nur sehr kleinen Teil des Plasmas dunkelviolett gefärbt hat, sowie solche, bei denen bereits die Hälfte des Plasmas oder mehr die starke Färbung zeigt. Auch die Geißeln haben sich alsdann etwas kräftiger gefärbt, erscheinen jedoch blaß gegenüber der violettschwarzen Färbung der Plasmastellen. Benutzt man gewöhnliche Ausstriche einer frischen Kultur, also Material ohne Formolfixierung, so dringt bei der Nachfärbung das Methyl-



violett viel leichter ein, ebenso bei vielen kleinen Bakterien, wie Proteus vulgaris; bei letzteren genügt schon eine verlängerte kalte Nachfärbung, um das Plasma kräftig violett zu färben.

Ob die Geißeln mit dem Plasma in Zusammenhang stehen und mit einem Basalkorn versehen sind, ähnlich wie dies bei tierischen Protisten der Fall ist, also die Membran und Schleimschicht durchsetzen, oder von letzteren Teilen entspringen, darüber herrscht unter den Bakteriologen noch keine Einigkeit; in Geißelpräparaten, gleichgültig, ob sie stark oder schwach gefärbt sind, sieht man sie stets nur vom Ektoplasma abgehen. Wenn es auch vielleicht unüberwindliche Schwierigkeiten verursacht, bei stark begeißelten Bakterien, wie Proteus vulgaris, für jede einzelne Geißel einen solchen Zusammenhang mit dem Plasma zu erkennen, so sollte man doch annehmen, daß es gelingen müßte, bei den starken Geißelbüscheln, wie Spirillum volutans sie zeigt, einen solchen Zusammenhang deutlich nachzuweisen, und zwar regelmäßig und nicht nur in Ausnahmefällen, wie Ellis und A. Meyer von einem solchen berichten. Mir ist es bei öfterer Wiederholung der Versuche nach dem von Ellis angegebenen Verfahren[1] niemals gelungen, seine Beobachtung zu bestätigen; solange daher ein sicheres Verfahren, den Zusammenhang der Geißeln mit dem Plasma zu erkennen, nicht angegeben ist, muß ich mich auf den Boden des durch unzählige Versuche sicher Bewiesenen stellen und annehmen, daß sie vom Ektoplasma, d. h. von der Membran und der Schleimhaut abgehen.

A. Meyer äußert auf S. 154 seines Werkes die Ansicht, daß der Schleim, mit welchem normale Bakterien bedeckt sind, nicht allein durch Verquellung der Membran entsteht, sondern ein regelmäßiges, bei den verschiedenen Arten in ungleicher Menge auftretendes Stoffwechselprodukt ist. Ich kann dieser Meinung nur beistimmen, hauptsächlich wegen des Verhaltens einzelner Arten gegenüber gewissen Zusätzen zum Nährboden; enthält er Zuckerarten, so umgeben sich viele Bakterien mit stattlichen Schleimhüllen. So bildet der Bac. tumescens auf Traubenzuckeragar alsbald viel Schleim, während die Bakterien der zu gleicher Zeit angelegten Kultur auf gewöhnlichem Agar solchen kaum zeigen; noch auffälliger ist das Verhalten des Streptococcus mesenterioides; nur auf Saccharosenährböden bildet er seine mächtigen knorpeligen Hüllen, während er auf Dextroseagar als „nackter“ Coccus mit sehr geringer Schleimmasse auftritt. Daß in ersterem Falle auch in der Reinkultur dieses Organismus die Flüssigkeit schleimig wird, ist durch spätere Veränderungen, z. B.

[1] Vgl. *Zentralbl. f. Bakt.* Bd. XXXIII. S. 31.



Säuerung bei starker Quellbarkeit der Hülle, zu erklären. Andere Beispiele sind Diplococcus pneumoniae, Micrococcus tetragenus und der Friedländersche Bac. pneumoniae, welche nur in Blut ihre großen Hüllen bilden.

## II. Die Reservestoffe.

Mikroskopiert man eine junge, in lebhafter Vermehrung befindliche Kultur eines Spaltpilzes, so wird man die Bakterien als schwach und gleichmäßig graue Stäbchen oder Scheibchen sich ohne jede Körnung von dem etwas helleren Untergrund abheben sehen; nur bei den großen Spirillen sind deutlich größere oder kleinere Kugeln im Inhalt zu erkennen. Wird die Kultur älter, so treten bei vielen, besonders den großen Sporen bildenden Bazillen „Körner" in dem Plasmaleib auf, welche an Menge und oft auch an Größe bis zu einem gewissen Alter der Kultur zunehmen, um hierauf bei der Sporenbildung allmählich wieder abzunehmen oder völlig zu verschwinden. Durch Färbung mit bestimmten Farbstoffen ist es gelungen, vier Arten dieser körnigen Reservestoffe zu unterscheiden, nämlich Fett, Volutin, Glykogen mit der Abart Jogen und Schwefel. Letzterer Reservestoff findet sich nur bei der Gruppe der Schwefelbakterien, füllt unter günstigen Ernährungsbedingungen, d. h. Anwesenheit von nicht zuviel Schwefelwasserstoff, prall ihren Leib und verschwindet bei Entziehung des Schwefelwasserstoffs allmählich wieder, indem er zu Schwefelsäure oxydiert wird; er ist leicht von Fetttröpfchen, mit denen er am ehesten verwechselt werden kann, zu unterscheiden, da er jede Färbung ablehnt. Von den anderen Reservestoffen speichern manche Rakterien nur eine Art, z. B. Bac. tumescens, megatherium, mycoides und Milzbrand nur Fett, Bac. alvei und diphtheritidis nur Volutin, viele dagegen beide der eben genannten, wie Bac. ellenbachensis, robur und Spirillum volutans. Während die Nachweisung von Jogen bei anaeroben Bakterien durch Zusatz von sehr geringen Jodmengen mit Leichtigkeit gelingt und an der blauen Färbung einzelner Plasmastellen erkannt werden kann, ferner ähnlich geringe Mengen von Jod genügen, um bei Oidium lactis und Hefearten das in diesen vorhandene Glykogen dunkelorange zu färben, erfordern glykogenhaltige Bakterien größere Mengen Jod, so daß auch das Plasma sich bereits färbt; selbst bei Bac. cohaerens, auf Traubenzucker gezogen, ist es mir nicht gelungen, für Photogramme geeignete Präparate zu erhalten, obgleich diese Art nur Glykogen speichern soll, in Ausnahmefällen vermischt mit einigen Fettkörnchen (vgl. A. Meyer, S. 204 und Fig. 47). Sicherlich werden die



Reservestoffe vom Plasma zuerst in submikroskopischer Form erzeugt und bei lebhafter Teilung sogleich verbraucht; erst ein Überschuß scheidet sich, in Körnchen sichtbar werdend, aus.

## A. Volutin.

Aus diesem bestehen die bei lebenden Spirillen mit Spuren von Methylenblau sich dunkelblau und bei Benutzung von sehr verdünnter Giemsalösung sich rötlichblau färbenden großen und kleinen Kugeln. In meiner Arbeit „Über den Bau der großen Spirillen"[1] habe ich sie damals als „Chromatin"kugeln bezeichnet[2], d. h. als Kugeln, welche sich an erster Stelle mit dem Farbstoff verbinden. Heute wissen wir, daß sie diese Fähigkeit ihrem Nukleinsäuregehalt verdanken, also einem Stoff, welcher auch in der Kernsubstanz sich findet; sie müssen jedoch als Reservestoffe betrachtet werden, da sie unter guten Ernährungsverhältnissen an Menge bedeutend zunehmen, um unter ungünstigen abzunehmen oder bei vielen Arten zu verschwinden; ferner lösen sie sich in kochendem Wasser mit Leichtigkeit, während Kernchromatin fixiert wird. Ihre Fähigkeit, Methylenblau festzuhalten, ist größer als diejenige des Kernes; während letzterer durch 1prozentige Schwefelsäure alsbald entfärbt wird, behält das Volutin oft eine halbe Stunde lang das Methylenblau fest; es färbt sich sogar bei manchen Arten, wie Spirillum volutans, beim Eintragen von lebendem Material in ein dunkelblaues Gemisch von 1 prozentiger Schwefelsäure und Methylenblau (vgl. Figg. 19, 19a und 47). Über weitere Methoden, das Volutin von anderen Einschlüssen der Zelle zu unterscheiden, verweise ich auf Meyers Werk, S. 243 u. f. Das Volutin findet sich bei vielen Schimmel- und Sproßpilzen. Da die Hefearten einen seit langer Zeit nachgewiesenen Kern von 2·5 bis 3 $\mu$ besitzen, dessen Sichtbarmachung in ausgehungerter, also von Reservestoffen freier Hefe leicht mit sehr verdünntem Methylviolett gelingt, so ist es klar, daß die in derselben Hefe bei guter Ernährung oft in beträchtlicher Menge auftretenden Volutinmassen trotz des Gehaltes an Nukleinsäure nicht als Kernäquivalent zu betrachten sind. Die gleiche Anschauung kann wohl auf die Bakterien übertragen werden, obgleich bei diesen ein Kern noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen ist. Nach Henneberg[3] steht „das Volutin mit der Gärkraft der Hefe in enger Beziehung" und „je mehr Volutin, desto größer ist die Triebkraft der Hefe; im Volutin befindet sich der Sitz für das Enzym der Gärung".

[1] *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXIV. S. 72 und 77.

[2] Z. B. auf S. 77 3. Zeile von unten.

[3] *Wochenschrift f. Brauerei.* 1915. Nr. 36—42. Sonderabdruck. S. 14 und 20.

B. Fett bzw. fetthaltiges Plasma oder Lipoide

in kleinsten und größeren Tropfen treten bei sehr vielen Bakterien auf, besonders stark, wenn der Nährboden Traubenzucker enthält. Es ist der am häufigsten auftretende Reservestoff und läßt sich in den kleinsten Tröpfchen von 0·25 bis 0·3 μ Durchmesser leicht und sicher durch Färbung mit Indophenol nachweisen. Noch schneller gelingt die Färbung nach der abgeänderten Naphtholblaumethode, wie ich sie an anderer Stelle angegeben habe[1]; in 3 bis 6 Minuten sind auch die kleinsten Tröpfchen tief dunkelblau gefärbt. Nach R. Brandt[2] bezeichnet man diese Färbung besser als Indophenolsynthese, da dieser Farbstoff durch das in den Lipoidtröpfchen befindliche Oxydaseferment gebildet und in statu nascendi vom Fett gelöst wird. Selbst sehr stark gefärbte Bakterien bleiben ungeschädigt und vermehrungsfähig. Als bei einem Versuch mit Bac. tumescens eine sehr kleine Öse der Aufschwemmung in der Farbflüssigkeit nach 10, 20, 40, 80 und 160 Minuten auf Agar ausgestrichen wurde, zeigte sich nach 24 Stunden kein Unterschied im Wachstum; der Bakterienrasen war in allen Röhrchen gleich stark.

Wenn das Fett im Plasma so fein verteilt ist, daß Tröpfchen mit dem Mikroskop nicht erkannt werden, wenn sie also kleiner sind als 0·2 μ, so färbt sich häufig das ganze Plasma oder einzelne Stellen desselben, je nach der Menge des in ihnen enthaltenen submikroskopischen Fettes, hell- bis dunkelblau; hat sich das Fett dagegen in sichtbaren Tropfen abgeschieden, so bleibt es völlig farblos. Dieses Verhalten kann man bei Bac. tumescens gut studieren, wenn man ihn auf gewöhnlichem Agar zieht; besonders in den Fäden mit kurzen, mehr breiten als langen Zellen färbt sich das Plasma kräftig blau, während es in den Stäbchen von Dextroseagar keine Spur von Färbung zeigt.

C. Jogen und Glykogen.

Während die Nachweisung von Jogen bei anaeroben Bakterien durch sehr geringen Zusatz von Jod mit Leichtigkeit sich vollzieht und schon vor Jahrzehnten die an Jodstärke erinnernde violettblaue Färbung einer Art den Namen „amylobakter" verschafft hat, ist mir der Nachweis von Glykogen selbst bei Bac. cohaerens, welcher nur diesen Reservestoff, in Ausnahmefällen auch etwas Fett bilden soll[3], so schlecht gelungen, daß ich Photogramme nicht angefertigt habe. Verstärkt man den Jodzusatz auf die 30- bis 40fache Menge, welche zur Nachweisung von Jogen genügt

[1] *Zentralbl. f. Bakt.* I. Bd. LXXV. S. 372 unten.

[2] *Zentralbl. f. Bakt.* I. Bd. LXXII. S. 1.

[3] Vgl. A. Meyer, S. 204 und Fig. 47.



und ebenfalls ausreicht, um an Glykogen reiches Material von Hefe und Oidium lactis kräftig zu färben, so wird durch diese größere Menge Jod auch das Plasma bei Bac. cohaerens gefärbt, ohne daß dunkler orange gefärbte Stellen sich deutlich und klar abheben. Dagegen sind die nächsten Verwandten der Spaltpilze, wie die Hefearten und Oidium lactis, vorzügliche Objekte, um nicht nur die hell- bis dunkelorange auftretenden Glykogenwolken, sondern auch die Fett- und Volutintropfen kennen zu lernen. Die Figuren auf Taf. II lassen erkennen, wie stark der Gehalt an Reservestoffen bei den einzelnen Zellen schwankt, ohne daß man imstande ist, einen Grund für diese Ungleichheiten anzugeben.

## III. Die Kerne der Bakterien.

In betreff dieser Gebilde neigt die Mehrzahl der Forscher der Ansicht zu, daß solche nicht mit Sicherheit nachgewiesen sind, auch nicht bei den größten Arten. Der Hauptvertreter der gegenteiligen Ansicht, A. Meyer, nimmt bei Bac. tumescens in jungen Stäbchen bis sechs solcher „Kerne" an und will sie auch in Sporangien sowohl in lebendem Zustand gesehen haben, sowie bei Bac. amylobacter nach Formolabtötung in nach Heidenhain gefärbten Präparaten erkannt haben. Ich selbst habe einige Versuche in dieser Richtung mit Bac. tumescens angestellt, zuerst fünf nach der Formolfuchsinmethode, wie sie Meyer S. 69 angibt. In den kürzeren Stäbchen, gewachsen auf gewöhnlichem Agar, sah ich meist vier, in längeren bis acht dunkelrot gefärbte Körnchen von 0·25 bis 0·3 $\mu$ Durchmesser (vgl. die Figg. 49 und 50). Bei Aufbewahrung des mit Vaselin umrandeten Präparates bis zum nächsten Tage war das Plasma, welches sehr geringe Körnung bzw. etwas maschiges Gewebe zeigte, bedeutend abgeblaßt, während die „Kerne" die ursprüngliche Färbung beibehalten hatten. Da die „Kerne" wandständig in dem 1·6 bis 1·8 $\mu$ dicken Stäbchen liegen, der Apochromat von 2 mm foc, auch bei Abblendung auf 0·5 seiner Apertur und gelbem Filter nur eine Tiefe von 0·3 $\mu$ besitzt, so erscheint von den „Kernen" im Photogramm meist nur ein einziger, selten zwei oder drei, wie bei Fig. 49. Der Zeichner ist dem Mikrophotographen gegenüber in großem Vorteil; er projiziert alles, was er bei verschiedener Einstellung gesehen hat, auf die Ebene des Papiers in sehr starker, meist 3000facher, Vergrößerung; auch erfreut er sich des Vorteils der Farbe, welche häufig schon aus technischen Gründen kräftiger ausfällt, als sie dem Präparate eigen ist; so erklärt es sich, daß die Photogramme in 1000facher Vergrößerung mit den Zeichnungen von Meyer nur entfernte Ähnlichkeit besitzen. Ich zweifle



nicht, daß ich jene Körnchen photographiert habe, welche Meyer als „Kerne“ betrachtet; um jedoch sicher zu gehen, habe ich Kopien meiner Negative Herrn Prof. Meyer gesendet und um sein Urteil gebeten. Leider hat er meine Anfrage nicht beantwortet, sondern mir nur geraten, nach den Kernen in Sporangien zu suchen, da sie in diesen am größten seien. Meine Bemühungen, Kerne in sporulierenden Stäbchen, fixiert durch Hitze oder durch Flemmingsche Flüssigkeit und gefärbt nach Heidenhain nach dem Verfahren, welches Meyer für Bac. amylobacter angibt (vgl. S. 69 u. f.), zu finden, sind vergeblich gewesen; sowohl die kleinen wie die größeren Sporenanlagen hellten sich bei langsamer Differenzierung mit Eisenalaun ganz gleichmäßig auf; auch wenn sie durchsichtig blaugrau geworden waren, konnte ein dunkleres, als Kern zu deutendes Korn nicht wahrgenommen werden. Ich kann daher als Resultat meiner Versuche nur annehmen, daß es sich bei den Formol-Fuchsinpräparaten um etwas dichtere Plasmamassen handelt, welche die Farbe kräftiger speichern als der übrige Teil des Plasmas.

Sind Kerne also bei den Bakterien nicht mit Sicherheit nachgewiesen, so gewinnt die Annahme an Wahrscheinlichkeit, daß entweder die Kerne eine Größe unter 0·2 $\mu$ besitzen, also im Hellfeld unsichtbar sind, oder daß Kern und Plasma so innig gemischt sind, daß der ganze Leib des Bacteriums bei Färbung mit Eosin-Methylenazur eine Mischfarbe zwischen Blau und Rot aufweist.

---

## Erklärung der Abbildungen.

### Tafel I u. II.

(Vergrößerung durchweg 1000fach.)

### Tafel I.

**Fig. 1.** Chromatium Okenii, spontan, lebend zwischen blaugrünen Algen, mit viel und wenig Schwefelkörnern; Membran trotz der Größe der Bakterien nicht oder kaum erkennbar.

**Figg. 2 bis 5.** Membran und Septen bei Bac. tumescens. Die junge Kultur auf gewöhnlichem Agar war in etwas 0·5prozentige Kochsalzlösung übertragen und durch Zugabe der passenden Menge Methylenblaulösung gefärbt. Nach Verschluß des Präparates mit Vaselin wurden die geeigneten Stellen photographiert. Die Membran tritt bei den Stäbchen und Fäden mit hellem Inhalt kräftig hervor; neben diesen finden sich Zellen mit stark gefärbtem Inhalt, sowohl in Verbänden wie einzeln. Beim Älterwerden der Kultur treten bei dieser Art in charakteristischer Weise neben schmalen Zellen von 1·2 bis 1·6 $\mu$ Breite und doppelter bis dreifach so großer Länge kürzere und längere Verbände mit bedeutend breiteren Zellen von 2·3 bis 2·7 $\mu$ Breite und stark bis auf 1·5 und 1·0 $\mu$ verkürzter Länge auf, z. B. bei Fig. 2 in der Mitte rechts. Auch sieht man häufig schiefe Septen statt der zur Längsrichtung normalen rechtwinkligen.

**Figg. 6 und 7.** Bac. robur, lebend mit etwas Methylenblau gefärbt, wie bei Figg. 2 bis 5. Die Membran ist sehr zart und am besten bei Sporangien zu erkennen.

**Figg. 8 und 9.** Bac. robur. Junge Kultur von gewöhnlichem Agar wurde in 1 prozentiges Osmium eingerührt, nach einigen Minuten auf Deckglas ausgestrichen und nach dem Trocknen durch Flamme fixiert, dann mit kochender verdünnter Antimonbeize übergossen und nach dem Spülen kalt mit Kristallviolett gefärbt. Die Membran tritt als feine Linie kräftiger und deutlicher hervor als bei den Figg. 6 und 7. Daß sie sehr zart ist, kann man auch daraus schließen, daß sie bei vielen Stäbchen trotz der Fixierung mit Osmium während des Antrocknens eine Einbiegung nach innen erlitten hat.

**Fig. 10.** Proteus vulgaris. Junge Kultur von gewöhnlichem Agar, behandelt wie bei Figg. 8 und 9. Die Membran tritt deutlich hervor, während bei Färbung des lebenden Materials mit Methylenblau wie bei Figg. 2 bis 5 eine solche nicht sichtbar wird, da das ganze Stäbchen sich gleichmäßig färbt.



**Fig. 11.** Planosarcina agilis, Stamm Wolff. Junge Kultur von gewöhnlichem Agar, behandelt wie bei Figg. 8 und 9. Nur die äußere Membran ist sichtbar geworden. Von den Teilungslinien, welche bei Färbung mit Methylenblau oder Fuchsin leicht sichtbar zu machen sind, ist nichts zu sehen.

**Figg. 12 und 13.** Spirillum volutans. Material von einer dreitägigen Kultur auf gewöhnlichem Agar wurde in 5 prozentige Salpeterlösung übertragen, auf Deckglas ausgestrichen, in zwei Minuten angetrocknet und durch Flamme fixiert, hierauf mittelstark mit Methylenblau gefärbt, gespült, mit Jodjodkalium übergossen und in Wasser liegend photographiert. Das Jod treibt das Methylenblau aus dem Plasma aus, während die Membran deutlich sichtbar wird, und das Volutin sich blauschwarz färbt.

**Fig. 14.** Spirillum volutans. Junge Kultur in lebhafter Teilung in Wasser übertragen, auf Deckglas angetrocknet, flambiert, mit Methylenblau gefärbt und nach dem Spülen mit kochender verdünnter Antimonbeize übergossen, nach dem Spülen in Wasser liegend photographiert. Die saure Beize treibt das Methylenblau aus dem Plasma, jedoch nicht aus dem Volutin und der Membran aus; letztere erscheint blaugrün und tritt kräftiger hervor als bei den Figg. 12 und 13.

**Figg. 15 bis 17.** Spirillum volutans. 9 Jahre alte, durch Hitze fixierte Ausstriche einer durch Formol abgetöteten und abgesetzten Bouillonkultur wurden mit kochender Antimonbeize übergossen und nach dem Erkalten und Spülen mit Methylviolett kalt gefärbt. Alle Geißeln treten mäßig kräftig hervor und gehen von der die Spirillen umgebenden dunkelvioletten Linie ab, welche vom Ektoplasma bzw. der Membran und der äußeren Schleimschicht gebildet wird. An denjenigen Stellen, an welchen die Spirillen eng aneinander gelagert sind, die beiden Ektoplasmaschichten sich also innig berühren, ist das Methylviolett nicht eingedrungen, so daß die violette Linie aussetzt. Hat sich ein sehr kleines Exemplar einem langen Spirillum eng angelagert, so täuscht es leicht eine kleine Ausbuchtung an dem großen vor, besonders wenn es geißellos ist. Im Präparat ist für das Auge der Unterschied zwischen der violettschwarzen Kontur und dem durch diese hindurch gesehenen, hellviolett erscheinenden, in Wirklichkeit ungefärbten Plasma ein größerer und deutlicherer, als die Photogramme ihn zeigen.

**Fig. 18.** Volutintröpfchen von 0·25 bis 0·3 $\mu$ Durchmesser in den Stäbchen einer unbenannten, beweglichen Trommelschlägerart in ziemlich regelmäßigen Abständen. Ich verdanke die Kultur Herrn Prof. Dr. Claußen, welcher sie von menschlicher Haut isoliert hat. Zur Herstellung des Photogrammes war das gewöhnliche, mit Methylenblau gefärbte Trockenpräparat nur mäßig mit 1 prozentiger Schwefelsäure entfärbt. Vorher hatten andere Versuche festgestellt, daß die Körnchen wirklich aus Volutin bestehen. An vielen Stellen des Präparates konnte man deutlich ein solches Volutintröpfchen in dem die Sporen bildenden, aufgetriebenen Teil erkennen.

**Figg. 19 und 19a.** Spirillum volutans, lebend in ein Gemisch von 1 prozentiger Schwefelsäure und Methylenblau eingetragen, mit Deckglas bedeckt, mit Vaselin umrandet und photographiert. Das Volutin ist sehr kräftig gefärbt, das Plasma zeigte hin und wieder eine zartblaue Färbung, vielleicht herrührend von dem in ihm enthaltenen submikroskopischen Volutin. Die sehr hellen Stellen bestehen aus Fett.

**Figg. 20 und 21.** Bac. tumescens von Dextroseagar, lebend gefärbt nach der Naphtholblaumethode, welche nach **Brandt** besser Indophenolsynthese benannt wird. Die Stäbchen enthalten große Mengen einer Lipoidsubstanz; sie hat sich bei Fig. 21 in kleinen und kleinsten, etwa 0·3 $\mu$ großen Tröpfchen abgeschieden, während sie bei Fig. 20 sich zu großen Kugeln vereinigt hat.

**Fig. 22.** Bac. Kreuzburg, eine dem Bac. tumescens sehr nahestehende, vielleicht ihm gleiche Art. Indophenolsynthese. Die Fettsubstanz ist in einzelnen Plasmastellen diffus verteilt und hat sich noch nicht in Gestalt von Tropfen abgeschieden.

**Figg. 23, 24 und 24a.** Spirillum volutans, lebend auf Lipoide gefärbt mittels Indophenolsynthese. Häufig tritt das Fett an den Polen in größeren, nicht immer runden Massen auf; daher sieht man bei ungefärbten oder nur schwach mit Methylenblau gefärbten Spirillen oft Exemplare mit sehr hellen Polenden.

**Figg. 25 und 26.** Milzbrand von Glyzerinagar, da er auf solchem leicht und eine größere Menge von Lipoiden macht als auf gewöhnlichem Agar: vier Tage bei 30°; Indophenolsynthese; hierauf zum Präparat etwas Jodjodkalium gesetzt, so daß Plasma und Membran eine leichte gelbe Färbung zeigten und sich vom Untergrund besser abhoben als ohne Zusatz von Jod. Die kleinsten Tropfen sind 0·3 und 0·4 $\mu$ groß.

## Tafel II.

**Figg. 27 bis 29.** Bac. amylobacter. Kultur von Dextroseagar, lebend durch sehr geringen Zusatz von Jodjodkalium gefärbt; nasses Präparat. Die Stäbchen sind reich an blauschwarz gefärbtem Jogen; auch tritt die Membran an den Jogen nicht enthaltenden Stellen bei vielen Stäbchen sehr kräftig hervor. In den langen Stäbchen der Figg. 28 und 29 haben sich die Plasmastellen entsprechend ihrem Jogengehalt leicht blau bis blauschwarz gefärbt.

**Figg. 30 bis 34.** Oidium lactis. Frische, 24stündige Kultur von Dextroseagar, lebend mit geringen Mengen von Jodjodkalium gefärbt; nasses Präparat. Die das Glykogen enthaltenden Plasmastellen waren entsprechend ihrer Glykogenmenge dunkelorange bis leicht gelb gefärbt. Daß die Zellen lebend geblieben sind, kann man an den vielfach gut erhaltenen Vakuolen erkennen, wie bei Fig. 32. Sehr selten tritt das Glykogen in Gestalt von runden Tropfen auf, wie bei Fig. 30 an der Abzweigung eines Fadens; gewöhnlich kommt es in wolkenartigen, im Plasma mitunter regelmäßig angeordneten Mengen vor, wie bei Figg. 31 und 33; meist jedoch ist es unregelmäßig verteilt.

**Figg. 35 bis 38.** Oidium lactis, auf Volutin gefärbt. Dasselbe Material wie bei Figg. 30 bis 34 wurde in 1prozentiges Osmium übertragen und nach 5 Minuten in ein Gemisch von 1prozentiger Schwefelsäure und Methylenblau eingetragen. Nach etwa 5 Minuten war das Volutin in vielen Zellen dunkelblau gefärbt; nach 24 Stunden erschien das Präparat kaum verändert. Die Mehrzahl der Zellen enthält kein Volutin, viele nur sehr geringe Mengen. Das Plasma war bei vielen Zellen stellenweise ziemlich kräftig gefärbt, vermutlich durch submikroskopisches Volutin; dazwischen helle Lücken von Glykogen, wie bei Fig. 36. Das Volutin



bildete in manchen Zellen kleine Tröpfchen, wie in Fig. 37, selten unregelmäßige Klumpen, wie in Fig. 38. Hin und wieder wurden große blaß rosenrot gefärbte Vakuolen ohne körnigen Inhalt beobachtet.

**Figg. 39 und 40.** Oidium lactis, nach der Indophenolsynthese auf Fett gefärbt. Zum Versuch diente dasselbe Material wie bei den Figg. 30 bis 38; die Kultur war jedoch 24 Stunden älter. Bereits nach 3 Minuten waren auch die kleinsten Lipoidtröpfchen kräftig blau gefärbt; sie liegen dem Anschein nach in dem die Vakuolen umgebenden Plasma, immer in einzelnen Tropfen, auch wenn ihre Anzahl in der Zelle eine sehr große ist. Am kleinsten sind und in der geringsten Anzahl treten die Tröpfchen in den Mycelfäden auf. In den inneren mittleren Teilen der Oidien des benutzten Präparates ließ sich auch noch nach 24 Stunden ein lebhaftes Wogen und Tanzen kleinster ungefärbter Körnchen, einem Mückenschwarm vergleichbar, wahrnehmen.

**Fig. 41.** Hefe M. Das Material, gewachsen in Bierwürze, verdanke ich Herrn Prof. Dr. Henneberg. Die Färbung auf Glykogen zeigt eine Musterkarte von verschiedenem Gehalt an diesem Stoff; Zellen in Sprossung sind fast oder ganz frei von ihm, wie auf der linken und rechten Seite der Figur, desgleichen am unteren Rande; Vakuolen überall gut erhalten.

**Fig. 42.** Hefe M, auf Fett durch Indophenolsynthese gefärbt. Erst nach 1 Stunde war die Färbung kräftig, die Flüssigkeit jedoch durch abgeschiedenes Indophenol sehr unsauber und für Photogramme ungeeignet; ein Verdünnen mit Wasser und Absetzen der schweren Hefe während 3 bis 4 Minuten beseitigte den Übelstand, so daß der Satz reine Präparate lieferte. Der Gehalt an Fett ist sehr verschieden; Zellen in Sprossung (vgl. Fig. 41) sind fast frei von ihm, dagegen kommt es in den langgestreckten Zellen des Luftmycels in Menge vor, wie Fig. 46 zeigt.

**Figg. 43 bis 45.** Kerne in ruhender, d. h. von Reservestoffen freier, untergäriger Bierhefe, lebend mit sehr verdünntem Methylviolett gefärbt. Die Kerne liegen stets der Vakuole an oder ragen in sie etwas hinein (vgl. Fig. 44, 45 und 43 unten). Von der Seite gesehen, zeigt der Kern eine sichelförmige Verdickung, einen Kopf, während der übrige Teil hell ist. Ist der erstere bei der mikroskopischen Beobachtung dem Beobachter voll zugewendet, so erscheint der ganze Kern dunkel wie in Fig. 43 oben. Ruhende Hefe erhält man nach Henneberg am schnellsten, wenn man frische Bierhefe 48 Stunden lang bei 30 bis 35° unter Wasser aufbewahrt. Der Durchmesser des Kernes beträgt 2·5 bis 3 $\mu$.

**Fig. 46** wie Fig. 42.

**Fig. 47.** Hefe M, in 40prozentiges Formalin eingetragen. Nach 5 Minuten eine Öse voll in ein Gemisch von 1prozentiger Schwefelsäure und Methylenblau übergeführt, also auf Volutin gefärbt und naß photographiert.

**Fig. 48.** Dasselbe Formalinmaterial wie bei Fig. 47 auf Deckglas ausgestrichen; nach dem Trocknen flambiert und das Präparat auf einen Tropfen der Methylenblau-Schwefelsäure gelegt; nach 3 Minuten mit Vaselin umrandet und photographiert. Ein Unterschied zwischen den Präparaten Fig. 47 und 48 war kaum bemerkbar. Der ebeneren Schicht wegen ist das Trockenpräparat für Photogramme vorzuziehen.



**Figg. 49 und 50.** Bac. tumescens. Frische Kultur von gewöhnlichem Agar, nach der Formol-Fuchsinmethode von A. Meyer gefärbt, um die „Kerne" zur Darstellung zu bringen. Während bei Fig. 50 in einigen Zellen nur ein im Präparat dunkelrot gefärbtes Körnchen statt der vier bis sechs bei verschiedener Einstellung in ihnen sichtbar werdenden klar zu erkennen ist, werden bei dem einen Stäbchen der Fig. 49 drei, vielleicht vier solcher Könchen gut erkennbar, besonders bei Betrachtung einer Kopie auf Zelloidinpapier mit schwacher Lupe.

**Fig. 51.** Bei den mehrfachen Versuchen, die „Kerne" zu färben, wurden bei einem Präparat durch Benutzung einer verunreinigten Kultur von Bac. tumescens bedeutend kleinere schmale Stäbchen mit sehr ähnlichen Gebilden wie bei Bac. tumescens beobachtet. Ob es sich um kleinste Volutintröpfchen bei diesem beweglichen Bacillus handelt, wurde nicht festgestellt.



[Aus dem bakteriologischen Feldlaboratorium Nr. 33 der k. u. k. Salubritätskommission Nr. 5.]
(Präses: Stabsarzt Doz. Dr. V. Russ.)

# Über das Vorkommen von Bakterien der Coli-Typhusgruppe im Pferdemist.

Von

Stabsarzt Dozent Dr. **Viktor K. Russ** und Untertierarzt Dr. **Alfred Trawiński.**

Während des gegenwärtigen Krieges hat es sich gezeigt, daß die Zahl der Paratyphusfälle unter den Truppen einen nicht geringen Prozentsatz der Darminfektionskrankheiten überhaupt ausmacht, ohne daß zusammenhängende Epidemien beobachtet werden konnten. Auffällig dabei ist, daß ursprünglich zu Beginn des Krieges die Zahl der Paratyphuserkrankungen gegenüber dem Typhus abdominalis bedeutend in der Minderheit war, nach und nach aber eine Steigerung erfuhr, während die Ziffern für Typhus immer mehr und mehr zurückgingen. Dieser letztere Umstand ist wohl auch darauf zurückzuführen, daß die Schutzimpfung gegen Typhus im weitesten Maße zur Durchführung gelangte.

Was das Vorkommen der verschiedenen Typen des Paratyphus anlangt, so konnte die Beobachtung gemacht werden, daß der Typus B gegenüber dem Typus A wesentlich stärker hervortritt, eine Erscheinung, die auch schon im Frieden beobachtet wurde, wie aus den Berichten verschiedenster Autoren hervorgeht. Die ganze Paratyphusfrage hat während des Krieges sicherlich eine außerordentliche Förderung erfahren, insofern, als bis zu dieser Zeit niemals Massenuntersuchungen in relativ so kurzer Zeit und von so enormem Umfange gemacht worden sind. Hinsichtlich der Epidemiologie des Paratyphus sind dennoch keine wesentlichen neueren Erfahrungen gesammelt worden, und sie ist vielleicht sogar unklarer, als sie vor dem Kriege war, wo man an der Hand von mehr oder weniger begrenzten Epidemien





meist die Infektionsquelle eruieren konnte, die meist in verdorbenem Fleisch, Gemüse u. dgl. zu finden war. Die Einheitlichkeit der Ernährung während des Krieges und besonders die stete Kontrolle, welcher die Verpflegsartikel des Heeres unterzogen werden, läßt im Vereine mit der fast ausschließlich sporadischen Verteilung der Paratyphuserkrankungen eine gemeinsame Infektionsquelle dieser Art wohl kaum annehmen, vielmehr scheint es sehr wahrscheinlich, daß es sich um uns bisher unbekannte Infektionsquellen handelt oder aber ausschließlich um Kontaktinfektionen.

Wir haben es uns zur Aufgabe gestellt, an der Hand des uns zur Verfügung stehenden großen Materiales nach solchen bisher nicht bekannten Infektionsquellen zu suchen. Unter verschiedenen Mitteilungen ist uns eine Arbeit von Huber (1) aufgefallen, der gelegentlich der Untersuchung von Darminhalt an 100 geschlachteten Pferden bei 7 Pferden 11 Paratyphus B-ähnliche Stämme züchten konnte, die nach ihrem kulturellen Verhalten auf den gebräuchlichen Nährböden mit dem Paratyphus B identisch waren und von einem Paratyphus B bzw. Hogcholera-Immunserum schwach beeinflußt wurden, während das mit diesen Stämmen hergestellte Immunserum echte Paratyphus B- wie auch Suipestifer-Stämme nicht agglutinierte. Die Prüfung auf weiteren differentialdiagnostischen Nährböden, z. B. Glyzerin, zeigte ein abweichendes Verhalten der Pferdestämme gegenüber den erwähnten Stämmen der engen Paratyphus B-Gruppe. Die von Huber gezüchteten Stämme bildeten auch kräftig Indol, was bei Paratyphus B nicht der Fall ist, und wiesen auch keine ausgesprochene Tierpathogenität auf. In der Literatur finden sich ferner zwei Arbeiten über positiven Paratyphusbefund bei gesunden Pferden. So berichtet Morgan (2), daß er im Dünndarminhalt eines Pferdes Paratyphus A-Bazillen finden konnte. Titze und Weichel (3) züchteten anläßlich von Untersuchungen über Kälberruhr aus dem Kot eines gesunden, in dem Versuchsinstitute des kaiserl. Gesundheitsamtes gehaltenen Pferdes ein dem Bac. suipestifer sich ähnlich verhaltendes Stäbchen, während im Kote von 19 anderen, verschiedenen Besitzern gehörigen, gesunden Pferden Stämme der engen Paratyphus B-Gruppe nicht nachgewiesen werden konnten. Diese zwei positiven Befunde sind jedoch für die Epidemiologie des Paratyphus mit Vorsicht zu verwerten, denn die Untersuchungen von Morgan beziehen sich nur auf ein Individuum verschiedener Tierspezies (Pferd, Schwein, Schaf, Kalb, Meerschweinchen, Kaninchen) und sollen in allen Fällen ein positives Resultat gegeben haben, während in dem von Titze und Weichel beobachteten positiven Falle die Möglichkeit einer Stallinfektion des Pferdes mit den Bazillen der Kälberruhr nicht auszuschließen ist.

Der Gedanke, daß der Pferdemist vielleicht doch als Infektionsquelle für Paratyphus in Betracht kommen kann, hat uns auf Anregung Herrn Hofrates Professor Dr. Paltauf veranlaßt, Untersuchungen in großem Maßstabe in dieser Richtung anzustellen, um so mehr, als gerade im Kriege zwischen Pferd und Mensch ein besonders inniger Kontakt besteht, und die Möglichkeit gegeben war, zahlreiche Pferde verschiedenster Gegenden und Heeresformationen zu untersuchen.

Unser Material erstreckte sich auf den Mist von 1000 Pferden, bei denen kein Verdacht auf eine Darmerkrankung vorlag. Die Proben wurden derart entnommen, daß ganz frisch abgesetzter Mist in einer Menge von etwa einem nußgroßen Stück so aufgefangen worden war, daß es mit dem Boden nicht in Berührung kam. Die mit dem Material gefüllten Stuhlversandgefäße wurden sodann in das Laboratorium gebracht und sofort in nachfolgender Weise verarbeitet:

Das Stück Mist kam in ein Kölbchen mit Glasperlen, wurde mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt und kräftig geschüttelt, bis eine Suspension entstand. Von dieser machten wir dann direkte Ausstriche auf zwei aufeinanderfolgende Drigalski-Agarplatten, sowie eine Anreicherung mit 2 ccm Suspension in 10 ccm Galle. Letztere wurde dann 12 Stunden im Thermostaten gehalten und sodann auch auf Drigalski-Agarplatten verstrichen. Wir haben dieses doppelte Verfahren angewendet, um uns einerseits über die Menge eventuell verdächtiger Keime im Pferdemist Aufschluß zu verschaffen, andererseits aber die Möglichkeit zu besitzen, auch bei Vorhandensein von geringen Quantitäten zu einem positiven Resultat zu kommen. Die beschickten Platten wurden dann nach der Methode von Felsenreich und Trawiński (4) untersucht, und die verdächtigen blaugewachsenen Kolonien abgeimpft und der weiteren Prüfung unterzogen, und zwar hinsichtlich des morphologischen, kulturellen, biologischen und agglutinatorischen Verhaltens, sowie der Tierpathogenität.

Im allgemeinen hat sich ergeben, daß in ungefähr 25% der untersuchten Pferde auf den Platten blauwachsende Kolonien gefunden werden konnten, und in einer Reihe von Fällen wurde die Beobachtung gemacht, daß die direkten Ausstriche ein negatives Resultat, die Galleanreicherung hingegen ein positives ergab. Die weitere Untersuchung erstreckte sich jedoch nur auf solche Stämme, welche nach ihrem Verhalten auf den gebräuchlichsten Nährböden (Traubenzuckerbouillon, Milchzucker- und Mannit-Agarplatten, Lakmusmolke) und dem positiven Befund der Beweglichkeit als paratyphusverdächtige Keime anzusprechen waren. Insgesamt wurden 77 Stämme (= 7·7 Prozent des untersuchten Materiales) isoliert, die den angegebenen Bedingungen entsprachen, und zwar stammt jede einzelne Kultur aus einer Mistprobe.





Vorweggenommen sei, daß keiner der gefundenen verdächtigen Stämme in allen seinen Merkmalen mit den Vertretern der engen Paratyphus B-Gruppe übereinstimmte, d. h. daß wir in keiner Probe einen echten Paratyphus B-Stamm nachweisen konnten. Dasselbe gilt auch für Paratyphus A.

Wenn wir nun trotzdem im nachfolgenden eine genaue Beschreibung der von uns isolierten Stämme geben, so begründet sich dies darin, daß wir bei dem Studium der Kulturen eine Reihe von interessanten biologischen Merkmalen finden konnten, die geeignet scheinen, die Kenntnisse über die Typhus-Coligruppe zu erweitern, insofern, als wir eine Reihe von Zwischengliedern dieser beiden Spezies eruierten.

Auf Grund der von uns in verschiedenster Richtung vorgenommenen Prüfungen konnten wir die erwähnten 77 Stämme in 25 Gruppen (I—XXV) einteilen, von denen nur manche miteinander näher verwandt sind.

## 1. Morphologisches Verhalten.

Es handelt sich in allen Fällen um gut bewegliche, mit zahlreichen Geißeln in peritricher Anordnung versehene kurze plumpe Stäbchen mit abgerundeten Enden, die sich mit Anilinfarbstoffen leicht färben und ein gramnegatives Verhalten zeigen.

## 2. Kulturelle Merkmale.

In Nährbouillon und Peptonwasser bilden alle Stämme nach 24stündiger Bebrütung eine gleichmäßige Trübung, in ersterer auch einen Bodensatz; ein Oberflächenhäutchen wurde auch bei älteren Kulturen nicht beobachtet.

Lakmusmolke wurde von sämtlichen frisch aus dem Mist gezüchteten Stämmen innerhalb der ersten 3—4 Stunden nach dem Verimpfen gerötet, dann aber trat ein Umschlag ins Blaue ein, jedoch nicht mit jenem bekannten Stich ins Veilchenviolette, wie er bei den Stämmen der engen Paratyphus B-Gruppe charakteristisch ist. Eine auffallende Erscheinung ließ sich feststellen bei Kulturen, die einige Monate auf Schrägagar gehalten und dann wieder einer Prüfung auf Lakmusmolke unterzogen wurden. Mit Ausnahme von 2 Stämmen (27, 69) blieb nunmehr die anfängliche Rötung der Lakmusmolke bestehen, ohne daß sich daran die Bläuung anschloß, auch wenn man die beimpften Proben 14 Tage bei 37° C beobachtete. Schickte man jedoch die Schrägagarkulturen durch Mäuse (subkutane Injektion) und züchtete nun aus der toten Maus (innere



Organe) den entsprechenden Stamm, prüfte nun auf Lakmusmolke, so hatte er die ursprüngliche Eigenschaft der anfänglichen Rötung und späteren Bläuung des Nährsubstrates wieder gewonnen. Eine ähnliche Beobachtung hat in unserem Laboratorium auch A. A. Dr. György gelegentlich von Untersuchungen an verschiedenen Stämmen, die aus menschlichen Fäzes gezüchtet worden waren, gemacht, worüber später an anderer Stelle berichtet werden wird. Es ist nicht ausgeschlossen, daß dieses variable Verhalten gegenüber Lakmusmolke mit der Virulenzänderung in irgendeinem Zusammenhange steht, insofern, als die Stämme durch die Mäusepassage mit der Virulenzsteigerung auch diese Eigenschaft wieder zurückgewinnen.

Im Gelatinestich zeigen die Kulturen üppiges Wachstum, der Nährboden wird auch bei längerem Halten der Kulturen (3 Wochen) nicht verändert.

Auf Schrägagar bilden die Stämme einen dichten feuchtglänzenden Belag.

Über den Kolonietypus, der bei allen Stämmen genauestens studiert wurde, wird weiter unten berichtet werden. Übersichtshalber erscheint es notwendig, zuerst das biologische und agglutinatorische Verhalten der gezüchteten Stämme zu besprechen.

## 3. Biologisches Verhalten.

In erster Linie prüften wir das Verhalten sämtlicher gezüchteter Pferdestämme gegenüber 18 Arten von Kohlehydraten (Mono-, Di-, Tri- und Polysaccharide, sowie drei- und vierwertige Alkohole), in der Weise, daß wir in Lakmusagar mit Zusatz der entsprechenden Kohlehydratarten Stichkulturen anlegten und dieselben 4—5 Tage (bei Dulcit 10 Tage) bei 37° C beobachteten. Die Prüfungen wurden mit jeder Serie mehrmals wiederholt und ergaben stets ein gleiches Resultat.

Weiter wurde das Verhalten gegenüber Milch und die Indolbildung untersucht. Die beimpften Röhrchen mit Milch wurden 24 Tage bei 37° C gehalten und täglich nachgesehen. Zeigte die Milch Veränderungen, so wurde stets die Probe auf die Reinheit der Kultur geprüft. Die Untersuchung auf Indolbildung nahmen wir mit bis 14 Tage alten, bei 37° C gehaltenen Kulturen in Tryptophanlösung nach Zipfel mittels der Ehrlichschen Methode nach Böhme vor, wobei wir zur Ausschüttelung des Farbstoffes uns ausschließlich des Chloroforms bedienten. Die nachstehende Tabelle A bringt übersichtlich die Resultate dieser Untersuchungen.

Die in den verschiedenen Kästchen der Tabelle mit fettem Druck vermerkten Zeichen (+, —) deuten an, daß sich der entsprechende Stamm in dieser Hinsicht von dem echten Paratyphus B unterscheidet.



**Tabelle A.**

| Gruppe | Pferdestämme | Dextrose | Lävulose | Galaktose | Mannose | Saccharose | Laktose | Maltose | Raffinose | Inulin | Stärke | Glyzerin | Erythrit | Xylose | Arabinose | Rhamnose | Dulcit | Mannit | Sorbit | Milchkoagul. | Indolbildung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | 1, 7, 11, 46, 62 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | − | − | + | + | **−** | + | + | + | − | − |
| II | 24, 65 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | − | − | + | + | + | + | + | + | − | − |
| III | 67 | + | + | + | + | **+** | − | + | − | − | − | − | − | + | + | + | **−** | + | + | − | − |
| IV | 12 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | **+** | − | + | + | + | **−** | + | + | − | − |
| V | 21, 40 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | − | − | + | + | + | **−** | + | + | − | − |
| VI | 31 | + | + | + | + | **+** | − | + | − | − | − | − | − | + | + | + | + | + | + | − | − |
| VII | 18, 51, 52, 68, 69 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | − | − | + | + | + | **−** | + | **−** | − | **+** |
| VIII | 22, 49, 50, 60 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | − | − | + | + | + | + | + | **−** | − | **+** |
| IX | 77 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | − | − | + | + | **−** | **−** | + | **−** | − | **+** |
| X | 27 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | **+** | − | + | + | + | **−** | + | + | − | **+** |
| XI | 36, 38 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | **+** | − | − | + | + | + | **−** | + | **−** | − | **+** |
| XII | 5 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | − | − | + | + | + | **−** | + | + | **+** | − |
| XIII | 3, 9, 16, 17, 30, 35, 37, 39, 42, 43, 54, 55, 57, 70, 73, 76 | + | + | + | + | **+** | − | + | **+** | − | − | − | − | + | + | + | **−** | + | + | **+** | − |
| XIV | 13, 15, 41, 59, 63, 72, 75 | + | + | + | + | **+** | − | + | **+** | − | − | − | − | + | + | + | + | + | + | **+** | − |
| XV | 29, 34, 64 | + | + | + | + | **+** | − | + | **+** | − | **+** | − | − | + | + | + | **−** | + | + | **+** | − |
| XVI | 8, 25, 44, 45 | + | + | + | + | **+** | − | + | **+** | − | **+** | − | − | + | + | + | + | + | + | **+** | − |
| XVII | 66 | + | + | + | + | − | − | + | **+** | − | − | − | − | + | + | + | + | + | + | **+** | − |
| XVIII | 26, 47, 71 | + | + | + | + | **+** | − | + | − | − | − | − | − | + | + | + | + | + | + | **+** | − |
| XIX | 56, 74 | + | + | + | + | **+** | − | + | − | − | **+** | − | − | + | + | + | **−** | + | + | **+** | − |
| XX | 2, 4, 10, 14, 20, 28, 32, 48, 58 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | − | − | + | + | + | **−** | + | **−** | **+** | **+** |
| XXI | 6 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | − | − | + | + | + | + | + | **−** | **+** | **+** |
| XXII | 19 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | − | − | **−** | + | **−** | **−** | + | + | **+** | **+** |
| XXIII | 23 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | − | − | + | + | **−** | **−** | + | + | **+** | **+** |
| XXIV | 53, 61 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | − | − | + | + | **−** | **−** | + | **−** | **+** | **+** |
| XXV | 33 | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | **+** | − | + | + | + | **−** | + | **−** | **+** | **+** |
| Coli mutabile | | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | **+** | − | + | + | + | **−** | + | + | **+** | − |
| Coli commune | | + | + | + | + | **+** | **+** | + | **+** | − | − | **+** | − | + | + | **−** | **−** | + | + | **+** | **+** |
| Paratyphus B | | + | + | + | + | − | − | + | − | − | − | − | − | + | + | + | + | + | + | − | − |



Bei genauerem Studium der Tabelle ergibt sich, daß vom biologischen Standpunkte aus sich sämtliche Pferdestämme in 25 Gruppen (I bis XXV) einteilen lassen, wobei die wichtigste differentialdiagnostische Rolle folgenden Kohlehydraten zukommt: Dulcit, Saccharose, Sorbit, Raffinose, Rhamnose, Stärke, Glyzerin, Xylose.

Ein abweichendes Verhalten von der engen Paratyphus B-Gruppe wurde festgestellt gegenüber: Dulcit bei 16, Saccharose und Sorbit 8, Raffinose und Rhamnose 5, Stärke 4, Glyzerin 3 und Xylose 1 Stämmen. Die wichtigste Kohlehydratart zur Differenzierung unserer Stämme untereinander und gegenüber Paratyphus B ist also Dulcit, dann auch das Glyzerin, worauf später noch zurückgekommen werden wird.

Hinsichtlich des Verhaltens gegenüber Milch sei zuerst erwähnt, daß von den 77 geprüften Stämmen 52 (alle Stämme der Gruppen XII bis XXV) die Milch zur Gerinnung brachten. Diese Veränderung trat nach verschiedenen Zeiten auf. Vor fünftägigem Wachstum konnte bei keinem Stamm die Milchkoagulation beobachtet werden, während der Kontrollstamm des Bac. coli commune die Milch binnen 24 Stunden zur Gerinnung brachte. Die meisten Stämme haben die Milch zwischen dem 7. bis 10. Tag koaguliert, bei 5 Stämmen trat diese Erscheinung erst am 13. bzw. 14. Tag und bei 4 Stämmen erst am 17. bzw. 18. Tag nach der Beimpfung auf. Indolbildung wurde nur bei 28 Stämmen (Stämme der Gruppen VII bis XI und XX bis XXV) beobachtet. Dabei sei bemerkt, daß Stämme, die nach 24stündigem Wachstum in Tryptophanlösung Indol nicht bildeten, auch bei längerem Züchten (bis 14 Tage) stets eine negative Reaktion gaben. Alle Indolbildner zeigten einen stark positiven Ausschlag der Probe.

Wie aus der beiliegenden Tabelle schon beim ersten Blick sichtbar ist, lassen sich sämtliche Pferdestämme nach der Fähigkeit, Milch zu koagulieren und Indol zu bilden, in vier Hauptgruppen einteilen, und zwar: A. Keine Indolbildung, keine Milchkoagulation (Gruppen I bis VI); B. Indolbildung, keine Milchkoagulation (Gruppen VII bis XI); C. Keine Indolbildung, Milchkoagulation (Gruppen XII bis XIX); D. Indolbildung und Milchkoagulation (Gruppen XX bis XXV).

Interessant ist jedenfalls, daß wir aus dem Pferdemist eine relativ große Zahl von Stämmen isolieren konnten, die das Vermögen der Indolbildung nicht besitzen, obwohl sie, wie die später angeführten Untersuchungen lehren, von der engen Paratyphus B-Gruppe soweit entfernt sind. Ganz im Gegensatz dazu stehen die Befunde von Trawiński (5) bei den Stämmen aus Schweinedarminhalt (II. Gruppe), die trotz der Indolbildung als der engen Paratyphus B-Gruppe nahestehend bezeichnet werden mußten.



Zusammenfassend ergibt sich, daß nur die Stämme 24 und 65 (II. Gruppe) hinsichtlich ihres Verhaltens gegenüber Kohlehydraten, wie auch der Milch- und Indolbildung mit dem Paratyphus B völlig übereinstimmen, alle anderen Stämme jedoch bald kleinere, bald größere Abweichungen von dieser Spezies aufweisen, aber auch mit dem Bac. coli commune und coli mutabile nicht identisch sind.

## 4. Agglutinatorisches Verhalten.

Wir haben nun versucht, festzustellen, ob sich die auf Grund der biologischen Merkmale der einzelnen Stämme durchgeführte Einteilung in XXV Gruppen auch nach dem agglutinatorischen Verhalten als berechtigt erweist. Zu diesem Zwecke immunisierten wir mit je einem Stamm jeder Gruppe je ein Kaninchen und stellten uns ferner Kaninchen-Immunsera von einem typischen Bac. coli commune und coli mutabile her (Stämme aus dem Kral'schen Museum), deren biologische Eigenschaften wir nachgeprüft haben (siehe Tabelle A). Die gewonnenen Sera wurden nur dann verwendet, wenn sie einen hohen Agglutinationstiter (mindestens 1:4000) für den homologen Stamm aufwiesen; nur mit dem Stamm des Bac. coli mutabile konnten wir kein höher agglutinierendes Serum als 1:400 bekommen, obwohl wir die Kaninchen vielfach mit abgetöteten und lebenden Kulturen vorbehandelt hatten. Die Spezifität dieses Serums mit so einem geringen Agglutiningehalt hat sich jedoch durch Komplementablenkungsversuche (Dr. György) erwiesen.

Die agglutinierenden Paratyphus A, Paratyphus B- und Enterit. Gaertner-Sera stammten aus dem staatl. serotherapeutischen Institut in Wien, ebenso das zu Kontrollen verwendete normale Pferdeserum.

Die Ergebnisse der umfangreichen Agglutinationsversuche sind aus den folgenden Tabellen zu entnehmen. Dazu wird zuerst bemerkt, daß wir sowohl mit dem normalen Pferdeserum, wie auch mit allen 29 Immunseris sämtliche Stämme der Gruppen I bis X, von den Gruppen XI bis XXV je einen Vertreter agglutiniert haben. Nur mit Paratyphus B-, Paratyphus A- und Gaertner-Serum haben wir alle 77 Stämme agglutinatorisch geprüft, was jedoch in der Tabelle nicht besonders angeführt wird, da sie sonst zu groß und unübersichtlich geworden wäre, und die anderen Stämme sich nur in ganz geringen Grenzen von dem angeführten Vertreter unterschieden. Daß wir von den Gruppen I bis X sämtliche Stämme agglutinierten, begründet sich in ihrem Verhalten hinsichtlich der Indolbildung und gegen-



über Milch, woraus auf eine nähere Verwandtschaft zum Paratyphus B in biologischer Hinsicht zu schließen gewesen wäre.

Die Resultate der Agglutinationsreaktionen wurden in den Tabellen so verzeichnet, daß + eine vollständige, ± eine unvollständige und Sp Spuren von Agglutination bedeutet.

Tabelle 1.

Normales Pferdeserum beeinflußt am stärksten die Stämme der Gruppen I, II, V und VI, während Stämme der anderen Gruppen nur in viel geringeren Verdünnungen ausgeflockt werden. Eine Wiederholung derselben Versuche mit einem anderen normalen Pferdeserum, das wir von einem im hiesigen Schlachthause geschlachteten Pferde gewannen, ergaben die gleichen Resultate.

Tabelle 2.

Durch das Paratyphus B-Serum wird die Mehrzahl der Stämme nur in recht niedriger Verdünnung agglutiniert, während die Stämme der engen Paratyphus B-Gruppe natürlich bis zur Titergrenze ausgeflockt werden.

Tabelle 3.

Das Paratyphus A-Serum beeinflußt alle Pferdestämme in noch geringerem Maße als das Paratyphus B-Serum.

Tabelle 4.[1]

Durch das Enterit. Gaertner-Serum wird keiner der geprüften Pferdestämme auch in der niedrigsten Verdünnung ausgeflockt.

Tabelle 5.

Von dem Coli commune-Serum wird der Stamm 69 (Gruppe VII) auffällig hoch agglutiniert, während die anderen Stämme derselben Gruppe, wie auch sämtlicher anderen Gruppen kaum oder gar nicht ausgeflockt werden. Es ist wohl anzunehmen, daß es sich bei dem Stamm 69 um eine Paraagglutination handelt, da das mit diesem Stamme hergestellte Immunserum (siehe Tabelle 12) den Coli commune-Stamm völlig unbeeinflußt läßt.

[1] Anmerkung: Die Stämme der engen Paratyphus B-Gruppe (B. suipestifer, B. Aertryk de Nobele, B. typhi murium, B. psittacosis Nocard) sowie B. enteritis Gaertner und die zwei Colistämme stammen aus dem Kral'schen Museum in Wien und sind dieselben Stämme, die der eine von uns (Trawiński) für seine Untersuchungen über das Vorkommen der Bakterien der Typhus-Coligruppe bei den Schweinen verwendet hat. Paratyphus A- und B-Stamm haben wir aus dem Blut Paratyphuskranker frisch gezüchtet.



Tabelle 6.

Die hohe Agglutination sämtlicher Stämme der ersten Gruppe durch das mit einem Vertreter dieser Gruppe hergestellte Immunserum beweist die Übereinstimmung der biologischen Eigenschaften mit dem agglutinatorischen Verhalten und dadurch deren enge Zusammengehörigkeit. Die durch das Verhalten gegenüber Milch und das Fehlen der Indolbildung biologisch der Gruppe I nahestehenden Stämme der Gruppen II bis VI, welche sich jedoch von dieser durch Abweichungen im Spaltungsvermögen verschiedener Kohlehydratarten unterscheiden, zeigen auch agglutinatorisch eine gewisse Verwandtschaft. Eine Ausnahme macht nur die Gruppe IV (Stamm 12), welche vom Serum der Gruppe I überhaupt nicht beeinflußt wird. Der Stamm 12 ist aber auch unter allen Kulturen der Hauptgruppe A (Gruppe I bis VI) der einzige, welcher Glyzerin stark zu spalten vermag. Vertreter anderer Gruppen der Pferdestämme, wie auch der engen Paratyphus B-Gruppe und der Coligruppe werden durch das Serum überhaupt nicht ausgeflockt.

Tabelle 7.

Der homologe und der zweite Stamm der Gruppe II werden bis zur Titergrenze ausgeflockt, die Stämme der Gruppen I, III, V, VI zeigen auch agglutinatorisch eine nahe Verwandtschaft mit Gruppe II; gegenüber dem Stamme 12 (Gruppe IV) verhält sich dieses Serum genau so, wie das der Gruppe I. Stämme der anderen Gruppen zeigen nur vereinzelt geringgradige Beeinflussungen.

Tabelle 8.

Das Serum der Gruppe III zeigt im allgemeinen eine geringere Beziehung zu den Stämmen der Hauptgruppe A, wie die Sera der Gruppen I und II. Dafür läßt sich eine Verwandtschaft zwischen dem Stamm der Gruppe III und der Gruppe XI nachweisen.

Tabelle 9.

Das mit dem Stamm 12 hergestellte Serum beeinflußt nur den homologen Stamm komplett, läßt die Stämme derselben Hauptgruppe A völlig unberührt und flockt nur vereinzelte Stämme anderer Gruppen in sehr geringer Verdünnung aus.

Tabelle 10.

Durch die Agglutinationsprüfungen mit diesem Serum wurden ähnliche Beziehungen der Stämme der Hauptgruppe A festgestellt, wie mit dem Serum der Gruppe II. Von den anderen Kulturen der Hauptgruppe B werden 3 Stämme mitagglutiniert.



### Tabelle 11.

Dieses Serum zeigt, daß zwischen dem Stamm der Gruppe VI und dem der Gruppe I eine ziemlich nahe serologische Verwandtschaft besteht, gegenüber der Gruppe II und V eine schon entferntere, während Gruppe III und die anderen Gruppen fast unbeeinflußt bleiben.

### Tabelle 12.

Unter den Stämmen der Gruppe VII (Hauptgruppe B) zeigen sich trotz ihres völlig gleichen biologischen Verhaltens agglutinatorisch bedeutende Unterschiede, die hier 3 Arten von Bakterienspezies unterscheiden lassen. Der homologe Stamm (69) wird bis zur Titergrenze agglutiniert, zwei andere Stämme (51 und 52) zeigen eine nahe Verwandtschaft zu Stamm 69, während die Stämme 18 und 68 vom Serum 69 völlig unberührt bleiben. Diese Differenzierung bestätigt sich auch beim Studium des Kolonietypus (s. u.), nach welchem die Stämme dieser Gruppe drei verschiedene Kolonieformen bilden. Es bestehen aber auch sicher Beziehungen zwischen dem Stamm 69 und einigen Stämmen anderer Gruppen.

### Tabelle 13.

Sämtliche Stämme der Gruppe VIII zeigen miteinander eine sehr nahe Verwandtschaft, wenn nicht eine völlige Identität. Nicht allzu weit von ihnen entfernt sind auch die beiden Stämme 68 und 69 (Gruppe VII), alle anderen Stämme zeigen zur Gruppe VIII gar keine Beziehungen.

### Tabelle 14.

Die Gruppe IX zeigt nur mit einem Stamme der Gruppe VIII (Stamm 60) gewisse Beziehungen.

### Tabelle 15.

Durch das mit Stamm 27 der Gruppe X hergestellte Serum wird außer dem homologen Stamm nur Stamm 77 der Gruppe IX paraagglutinatorisch beeinflußt.

### Tabelle 16.

Stamm 38 der Gruppe XI zeigt eine nähere Verwandtschaft zu Stamm 18 der Gruppe VII (s. auch Kolonietypus), ferner werden durch sein Serum auch Stämme der Gruppen II, III, V, XII, XX und XXI beeinflußt.



Tabelle 17.

Außer einer kompletten Agglutination des homologen Stammes läßt sich noch eine bald stärkere, bald schwächere Beeinflussung der Stämme einiger anderer Gruppen feststellen.

Tabelle 18.

Von der Hauptgruppe C zeigen die Gruppen XIII, XV bis XIX miteinander eine Verwandtschaft, insofern, als die mit den Vertretern dieser Gruppen hergestellten agglutinierenden Sera nicht nur die homologen, sondern auch die heterologen Stämme ausflocken (s. auch Tabelle 20 bis 24). Am nächsten verwandt zum Stamme 3 erscheint der Stamm 71, dann der Stamm 29 und endlich weiter die Stämme 45, 74 und 66. In gar keinen Beziehungen zum Stamme 3 scheinen zu stehen die Stämme 5 und 15. Die Gruppe XIII besteht aus einer großen Anzahl von Stämmen, die vom Serum des Stammes 3 alle in fast völlig gleicher Weise beeinflußt werden. Der Kürze halber wurde in der Tabelle nur der homologe Stamm angeführt.

Tabelle 19.

Diese Tabelle zeigt eine Mitagglutination der Stämme der Gruppen XII, XV, XVIII und XIX, wie auch eine geringe Beeinflussung der Stämme einiger anderer Gruppen.

Tabelle 20.

Durch dieses Serum werden Stämme der Gruppen XIV, XVIII und XIX mitagglutiniert, alle anderen bleiben völlig unberührt.

Tabelle 21.

Dieses Serum zeigt agglutinatorisch nahe Beziehungen zu den Stämmen der Gruppen XIX und XIII, wie auch zum Stamm 69 der Gruppe VII.

Tabelle 22.

Durch dieses Serum werden Stämme der Gruppen XIII, XVI und XIX recht hoch agglutiniert, Stämme einiger anderen Gruppen nur wenig beeinflußt.

Tabelle 23.

Dieses Serum vermag Stämme der Gruppen XIII bis XV und XIX in starken Verdünnungen auszuflocken.

Tabelle 24.

Auch hier läßt sich eine bedeutende Agglutination der zur Hauptgruppe C gehörigen Gruppen (XIII, XV bis XVIII) wahrnehmen. Auffällig ist die relativ hohe Agglutination des Stammes 69 der VII. Gruppe.



### Tabelle 25.

Das durch Stamm 58 der Gruppe XX hergestellte Serum agglutiniert sehr hoch außer dem homologen Stamm auch den Stamm 6 der Gruppe XXI. Beide Stämme gehören zur Hauptgruppe D. Kulturen der Gruppen I, II, V, XI und Stamm 18 der Gruppe VII werden unter Berücksichtigung des hohen Agglutinationstiters des Serums 58 nur in geringem Grade beeinflußt. Auch die anderen Stämme dieser Gruppe werden durch das Serum 58 hoch agglutiniert, was jedoch in der Tabelle nicht angeführt wird.

### Tabelle 26.

Das mit dem Stamm 6 der Gruppe XXI hergestellte Serum agglutiniert fast bis zur Titerhöhe den Stamm 58 der Gruppe XX. Diese beiden Stämme lassen sich also durch Kreuzagglutination voneinander nicht differenzieren. Sie haben auch einen gemeinsamen Kolonietypus; biologisch unterscheiden sie sich dadurch, daß Stamm 58 Dulcit nicht spaltet.

### Tabelle 27 bis 30.

Diese Sera sind für die homologen Stämme ganz spezifisch, insofern, als sie alle anderen Kulturen völlig oder fast völlig unbeeinflußt lassen.

Zusammenfassend läßt sich über die agglutinatorischen Verhältnisse folgendes sagen:

1. Mit den Vertretern aller Gruppen der aus Pferdemist von uns gezüchteten Stämme lassen sich am Kaninchen hochwertige agglutinierende Sera darstellen, welche außer der kompletten Agglutination der homologen Stämme bis zur Titergrenze eine bald stärkere, bald schwächere Mitagglutination mancher Gruppen zeigen.

2. Mit echten Paratyphus B-, Paratyphus A-, Enteritis Gaertner- und Coli commune-Stämmen hergestellte agglutinierende Immunsera beeinflussen die aus Pferdemist gezüchteten Stämme nur vereinzelt und in ganz niedrigen Verdünnungen. Deshalb kann auf eine Verwandtschaft unserer Stämme mit den Kulturen der angeführten typischen Bakterienspezies nicht geschlossen werden, wenn sie auch biologisch und kulturell manche Ähnlichkeiten aufweisen, ja sogar wie z. B. Stämme der Gruppe II in dieser Hinsicht mit Paratyphus B völlig identisch scheinen.

3. Für das Fehlen verwandtschaftlicher Beziehungen zwischen den genannten typischen Kulturen und unseren



## Tabelle 1.

### Agglutination: Normales Pferdeserum.

| Gruppe | Stamm | 25 | 50 | 100 | 150 | 200 | 250 | 300 | 400 | 500 | 600 | 700 | 800 | 900 | 1000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | + | + | + | + | + | ± | ± | ± | Sp | | | | | |
| | ,, 7 | + | + | + | ± | Sp | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | + | + | + | + | + | ± | ± | ± | ± | ± | Sp | | | |
| | ,, 46 | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | | | | | | |
| | ,, 62 | + | + | + | ± | Sp | | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | + | + | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | | | | |
| | ,, 65 | + | + | + | + | + | ± | ± | ± | | | | | | |
| III | ,, 67 | – | – | | | | | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | + | ± | Sp | | | | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | | | |
| | ,, 40 | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | ± | ± | | |
| VI | ,, 31 | + | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | | | | | |
| VII | ,, 18 | ± | Sp | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 51 | ± | ± | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 52 | ± | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | + | + | ± | ± | Sp | | | | | | | | | |
| | ,, 69 | ± | ± | Sp | | | | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | ± | ± | Sp | | | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | + | ± | ± | Sp | | | | | | | | | | |
| | ,, 50 | + | ± | ± | Sp | | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | + | ± | Sp | | | | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | + | ± | ± | | | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | + | + | ± | Sp | | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | + | + | + | + | ± | ± | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | ± | ± | ± | | | | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | + | + | ± | | | | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | + | ± | ± | Sp | | | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | + | + | + | + | ± | | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | ± | | | | | | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | ± | ± | Sp | | | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | + | + | ± | | | | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | + | ± | Sp | | | | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | ± | Sp | | | | | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | ± | ± | Sp | | | | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | ± | ± | Sp | | | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | – | – | | | | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | + | ± | Sp | | | | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | + | + | ± | Sp | | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | – | – | | | | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | B. paratyphi B | Sp | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | – | – | | | | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | – | – | | | | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | – | – | | | | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | – | – | | | | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | – | – | | | | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | + | + | ± | | | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | – | – | | | | | | | | | | | | |

**Tabelle 2.**

Agglutination: Paratyphus B-Kaninchenserum (Titer 1:8000).

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | + | ± | | | | | | | | |
| | „ 7 | ± | | | | | | | | | |
| | „ 11 | + | ± | | | | | | | | |
| | „ 46 | + | ± | | | | | | | | |
| | „ 62 | ± | | | | | | | | | |
| II | „ 24 | + | + | Sp | | | | | | | |
| | „ 65 | + | + | ± | | | | | | | |
| III | „ 67 | ± | Sp | | | | | | | | |
| IV | „ 12 | − | − | | | | | | | | |
| V | „ 21 | + | ± | | | | | | | | |
| | „ 40 | + | ± | Sp | | | | | | | |
| VI | „ 31 | ± | | | | | | | | | |
| VII | „ 18 | ± | Sp | | | | | | | | |
| | „ 51 | − | − | | | | | | | | |
| | „ 52 | − | − | | | | | | | | |
| | „ 68 | ± | Sp | | | | | | | | |
| | „ 69 | − | − | | | | | | | | |
| VIII | „ 22 | + | ± | | | | | | | | |
| | „ 49 | ± | | | | | | | | | |
| | „ 50 | Sp | | | | | | | | | |
| | „ 60 | ± | ± | | | | | | | | |
| IX | „ 77 | ± | | | | | | | | | |
| X | „ 27 | + | | | | | | | | | |
| XI | „ 38 | ± | ± | | | | | | | | |
| XII | „ 5 | + | ± | Sp | | | | | | | |
| XIII | „ 3 | ± | Sp | | | | | | | | |
| XIV | „ 15 | ± | Sp | | | | | | | | |
| XV | „ 29 | ± | Sp | | | | | | | | |
| XVI | „ 45 | ± | | | | | | | | | |
| XVII | „ 66 | + | ± | Sp | | | | | | | |
| XVIII | „ 71 | − | − | | | | | | | | |
| XIX | „ 74 | ± | Sp | | | | | | | | |
| XX | „ 58 | ± | | | | | | | | | |
| XXI | „ 6 | − | − | | | | | | | | |
| XXII | „ 19 | − | − | | | | | | | | |
| XXIII | „ 23 | − | − | | | | | | | | |
| XXIV | „ 61 | ± | | | | | | | | | |
| XXV | „ 33 | + | ± | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | − | − | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | B. paratyphi B | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | „ suipestifer | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | |
| | „ Aertryk Nobele | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| | „ typhi murium | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± |
| | „ psittac. Nocard | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | Sp |
| | B. enter. Gaertner | ± | | | | | | | | | |
| Coli | B. coli commune | ± | Sp | | | | | | | | |
| | „ coli mutabile | − | − | | | | | | | | |

**Tabelle 3.**

**Agglutination: Paratyphus A-Kaninchenserum (Titer 1:8000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | + | ± | | | | | | | | |
| | ,, 7 | ± | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | + | ± | | | | | | | | |
| | ,, 46 | + | ± | | | | | | | | |
| | ,, 62 | ± | Sp | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | + | ± | | | | | | | | |
| | ,, 65 | + | ± | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | + | ± | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | − | − | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | + | ± | | | | | | | | |
| | ,, 40 | ± | Sp | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | ± | ± | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | ± | Sp | | | | | | | | |
| | ,, 51 | − | − | | | | | | | | |
| | ,, 52 | Sp | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | ± | Sp | | | | | | | | |
| | ,, 69 | ± | Sp | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | + | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | − | − | | | | | | | | |
| | ,, 50 | Sp | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | Sp | | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | Sp | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | + | ± | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | ± | Sp | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | ± | | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | ± | | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | ± | Sp | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | ± | | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | − | − | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | + | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | ± | | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | ± | Sp | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | ± | Sp | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | + | | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | Sp | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | − | − | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | ± | | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | ± | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± |
| Enge Paratyphus B | B. paratyphi B | + | ± | ± | Sp | | | | | | |
| | ,, suipestifer | ± | ± | ± | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | ± | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | + | + | + | ± | ± | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | ± | ± | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | − | − | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | − | − | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | − | − | | | | | | | | |

Tabelle 4.

Agglutination: Enteritis-Gaertnerserum (Titer 1:20000).

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 8000 | 10000 | 12000 | 16000 | 18000 | 20000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, 7 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, 46 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, 62 | – | – | | | | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, 65 | – | – | | | | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | – | – | | | | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | – | – | | | | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, 40 | – | – | | | | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | – | – | | | | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, 51 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, 52 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, 69 | – | – | | | | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, 50 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | – | – | | | | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | – | – | | | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | – | – | | | | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | – | – | | | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | – | – | | | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, paratyphi B | ± | Sp | | | | | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| Coli | ,, coli commune | – | – | | | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | – | – | | | | | | | | | | | |

Tabelle 5.

**Agglutination: Mit Bacterium coli commune hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:6000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | − | − | | | | | | | |
| | ,, 7 | − | − | | | | | | | |
| | ,, 11 | Sp | | | | | | | | |
| | ,, 46 | ± | ± | | | | | | | |
| | ,, 62 | − | − | | | | | | | |
| II | ,, 24 | ± | | | | | | | | |
| | ,, 65 | Sp | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | − | − | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | − | − | | | | | | | |
| V | ,, 21 | ± | Sp | | | | | | | |
| | ,, 40 | − | − | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | − | − | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | − | − | | | | | | | |
| | ,, 51 | ± | | | | | | | | |
| | ,, 52 | − | − | | | | | | | |
| | ,, 68 | − | − | | | | | | | |
| | ,, 69 | + | + | + | + | ± | ± | | | |
| VIII | ,, 22 | + | ± | | | | | | | |
| | ,, 49 | ± | Sp | | | | | | | |
| | ,, 50 | ± | ± | | | | | | | |
| | ,, 60 | ± | Sp | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | Sp | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | − | − | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | Sp | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | − | − | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | + | ± | ± | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | − | − | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | − | − | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | − | − | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | − | − | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | − | − | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | ± | ± | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | − | − | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | − | − | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | − | − | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | − | − | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | − | − | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | − | − | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | − | − | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, paratyphi B | − | − | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | − | − | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | − | − | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | − | − | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | − | − | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | − | − | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| | ,, coli mutabile | − | − | | | | | | | |

Tabelle 6.

Agglutination: Mit Pferdestamm 1 der I. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:4000).

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 3000 | 4000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| | ,, 7 | + | + | + | + | + | + | ± | Sp | |
| | ,, 11 | + | + | + | + | + | + | ± | | |
| | ,, 46 | + | + | + | + | + | + | ± | Sp | |
| | ,, 62 | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| II | ,, 24 | + | ± | ± | Sp | | | | | |
| | ,, 65 | + | + | ± | Sp | | | | | |
| III | ,, 67 | + | + | ± | ± | ± | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | |
| V | ,, 21 | + | + | ± | ± | ± | | | | |
| | ,, 40 | + | ± | ± | Sp | | | | | |
| VI | ,, 31 | + | + | ± | ± | ± | Sp | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 69 | — | — | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | ± | Sp | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | ± | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | B. paratyphi B | — | — | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | |

## Tabelle 7.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 65 der II. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1 : 12000).**

| Gruppe | Stamm | | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 | 10000 | 12000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm | 1 | + | + | + | + | + | + | ± | Sp | | | | |
| | ,, | 7 | + | + | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | | |
| | ,, | 11 | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | |
| | ,, | 46 | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | | | |
| | ,, | 62 | + | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | | | |
| II | ,, | 24 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| | ,, | 65 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± |
| III | ,, | 67 | + | + | + | + | + | ± | ± | ± | | | | |
| IV | ,, | 12 | — | — | | | | | | | | | | |
| V | ,, | 21 | + | + | + | + | + | + | ± | Sp | | | | |
| | ,, | 40 | + | + | + | + | + | + | ± | ± | ± | | | |
| VI | ,, | 31 | + | + | + | + | + | ± | ± | | | | | |
| VII | ,, | 18 | ± | ± | Sp | | | | | | | | | |
| | ,, | 51 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, | 52 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, | 68 | Sp | | | | | | | | | | | |
| | ,, | 69 | — | — | | | | | | | | | | |
| VIII | ,, | 22 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, | 49 | Sp | | | | | | | | | | | |
| | ,, | 50 | ± | Sp | | | | | | | | | | |
| | ,, | 60 | — | — | | | | | | | | | | |
| IX | ,, | 77 | — | — | | | | | | | | | | |
| X | ,, | 27 | — | — | | | | | | | | | | |
| XI | ,, | 38 | ± | ± | ± | Sp | | | | | | | | |
| XII | ,, | 5 | + | + | ± | ± | ± | | | | | | | |
| XIII | ,, | 3 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIV | ,, | 15 | + | + | ± | Sp | | | | | | | | |
| XV | ,, | 29 | ± | | | | | | | | | | | |
| XVI | ,, | 45 | — | — | | | | | | | | | | |
| XVII | ,, | 66 | — | — | | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, | 71 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIX | ,, | 74 | — | — | | | | | | | | | | |
| XX | ,, | 58 | ± | ± | ± | Sp | | | | | | | | |
| XXI | ,, | 6 | + | ± | ± | Sp | | | | | | | | |
| XXII | ,, | 19 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, | 23 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, | 61 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXV | ,, | 33 | — | — | | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | | — | — | | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, paratyphi B | | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | | ± | Sp | | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | | — | — | | | | | | | | | | |

## Tabelle 8.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 67 der III. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1 : 8000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | + | ± | ± | ± | Sp | | | | | |
| | ,, 7 | + | + | ± | ± | ± | ± | | | | |
| | ,, 11 | + | + | ± | ± | ± | | | | | |
| | ,, 46 | + | + | ± | Sp | | | | | | |
| | ,, 62 | + | + | ± | ± | ± | Sp | | | | |
| II | ,, 24 | + | + | + | ± | ± | | | | | |
| | ,, 65 | + | + | + | ± | ± | | | | | |
| III | ,, 67 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | + | + | + | + | ± | ± | | | | |
| | ,, 40 | + | + | + | ± | ± | ± | | | | |
| VI | ,, 31 | ± | Sp | | | | | | | | |
| | ,, 18 | + | + | ± | Sp | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | |
| VII | ,, 52 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 69 | — | — | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | ± | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | + | Sp | | | | | | | | |
| | ,, 50 | ± | Sp | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | + | ± | Sp | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | + | + | + | ± | ± | Sp | | | | |
| XII | ,, 5 | + | ± | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | ± | ± | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | + | ± | ± | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | + | + | ± | ± | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | Sp | — | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | |

## Tabelle 9.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 12 der IV. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1 : 12000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 | 10000 | 12000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 65 | — | — | | | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| V | ,, 21 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 40 | — | — | | | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 51 | ± | Sp | | | | | | | | | | |
| | ,, 52 | ± | ± | | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 69 | — | — | | | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | ± | Sp | | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | Sp | | | | | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | + | ± | Sp | | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | | | |

**Tabelle 10.**

**Agglutination: Mit Pferdestamm 21 der V. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:12000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 | 10000 | 12000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | + | + | + | + | + | + | ± | ± | | | | |
| | ,, 7 | + | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | | | |
| | ,, 11 | + | + | + | + | + | + | ± | ± | | | | |
| | ,, 46 | + | + | + | + | ± | ± | ± | Sp | | | | |
| | ,, 62 | + | + | + | ± | ± | ± | Sp | | | | | |
| II | ,, 24 | + | + | + | + | + | + | ± | ± | | | | |
| | ,, 65 | + | + | + | + | + | ± | Sp | | | | | |
| III | ,, 67 | + | + | + | ± | ± | Sp | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | ,, 40 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| VI | ,, 31 | + | + | + | ± | ± | ± | Sp | | | | | |
| VII | ,, 18 | + | + | + | ± | ± | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | + | + | + | ± | ± | ± | | | | | | |
| | ,, 69 | ± | | | | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | ± | | | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | + | + | + | + | ± | ± | | | | | | |
| XII | ,, 5 | + | + | ± | ± | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | + | ± | ± | | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | + | ± | ± | Sp | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | | | |

**Tabelle 11.**

**Agglutination: Mit Pferdestamm 31 der VI. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:6000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | + | + | + | + | + | + | ± | | |
| | ,, 7 | + | + | + | + | ± | ± | | | |
| | ,, 11 | + | + | + | + | + | ± | | | |
| | ,, 46 | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | |
| | ,, 62 | + | + | + | + | ± | ± | ± | | |
| II | ,, 24 | + | ± | ± | ± | | | | | |
| | ,, 65 | + | + | ± | ± | Sp | | | | |
| III | ,, 67 | Sp | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | |
| V | ,, 21 | ± | ± | ± | | | | | | |
| | ,, 40 | + | ± | ± | | | | | | |
| VI | ,, 31 | + | + | + | + | + | + | + | + | ± |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 69 | Sp | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 50 | Sp | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | Sp | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | + | ± | ± | ± | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | ± | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | + | ± | Sp | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | |

Tabelle 12.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 69 der VII. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1 : 10000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 | 10000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 65 | Sp | | | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 40 | — | — | | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 51 | + | + | + | + | ± | ± | ± | | | | |
| | ,, 52 | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | | | |
| | ,, 68 | Sp | | | | | | | | | | |
| | ,, 69 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± |
| VIII | ,, 22 | + | + | + | + | + | + | ± | Sp | | | |
| | ,, 49 | + | + | ± | Sp | | | | | | | |
| | ,, 50 | + | ± | Sp | | | | | | | | |
| | ,, 60 | + | + | ± | ± | ± | ± | | | | | |
| IX | ,, 77 | + | + | ± | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | — | — | | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | + | + | + | ± | ± | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | + | + | ± | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | Sp | | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | + | + | + | + | + | ± | ± | | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | + | + | + | + | ± | Sp | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | ± | ± | | | | | | | | | |
| | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | | |

**Tabelle 13.**

**Agglutination: Mit Pferdestamm 50 der VIII. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1 : 16000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 | 10000 | 12000 | 14000 | 16000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 65 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 40 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | + | + | + | ± | ± | ± | | | | | | | | |
| | ,, 69 | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | Sp |
| | ,, 49 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| | ,, 50 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± |
| | ,, 60 | + | + | + | + | + | ± | ± | ± | ± | Sp | | | | |
| IX | ,, 77 | ± | | | | | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | ± | Sp | | | | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | | | | | |

**Tabelle 14.**

**Agglutination: Mit Pferdestamm 77 der IX. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1: 8000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 65 | — | — | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | ± | Sp | Sp | | | | | | | |
| V | ,, 21 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 40 | — | — | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 69 | + | ± | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 60 | + | ± | ± | ± | | | | | | |
| IX | ,, 77 | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| X | ,, 27 | ± | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | — | — | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | |
| Enge Para-typhus B | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | |

### Tabelle 15.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 27 der X. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:20000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 8000 | 10000 | 12000 | 16000 | 18000 | 20000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 65 | — | — | | | | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 40 | — | — | | | | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 69 | + | + | ± | | | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | ± | ± | ± | | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | + | ± | Sp | | | | | | | | | | |
| | ,, 50 | + | + | ± | | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | + | + | + | + | + | + | ± | | | | | | |
| X | ,, 27 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | ± | | | | | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | | | | |

## Tabelle 16.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 38 der X. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:16000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 | 10000 | 12000 | 14000 | 16000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | ± | ± | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 7 | ± | Sp | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | + | ± | ± | ± | | | | | | | | | | |
| | ,, 46 | + | ± | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 62 | ± | Sp | | | | | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | + | + | + | + | + | + | ± | ± | | | | | | |
| | ,, 65 | + | + | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | | | | |
| III | ,, 67 | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | | | | |
| IV | ,, 12 | Sp | | | | | | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | | | | | |
| | ,, 40 | + | + | + | + | + | ± | ± | ± | | | | | | |
| VI | ,, 31 | Sp | | | | | | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | | |
| | ,, 51 | Sp | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 69 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| XII | ,, 5 | + | + | + | ± | ± | ± | ± | Sp | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | + | + | + | ± | ± | | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | + | + | + | + | ± | ± | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | | | | | |

### Tabelle 17.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 5 der XII. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:8000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | + | ± | Sp | | | | | | | |
| | ,, 7 | ± | ± | ± | | | | | | | |
| | ,, 11 | + | + | | | | | | | | |
| | ,, 46 | + | + | ± | ± | | | | | | |
| | ,, 62 | ± | ± | Sp | | | | | | | |
| II | ,, 24 | + | ± | | | | | | | | |
| | ,, 65 | + | | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | ± | ± | ± | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | + | ± | ± | | | | | | | |
| | ,, 40 | + | + | ± | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | ± | Sp | ± | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | + | + | + | ± | ± | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 68 | ± | | | | | | | | | |
| | ,, 69 | — | — | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | + | + | + | + | ± | Sp | | | | |
| XII | ,, 5 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | ± | Sp | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | + | + | + | ± | Sp | | | | | |
| XXI | ,, 6 | + | + | + | ± | ± | Sp | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | |
| | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | |

**Tabelle 18.**

**Agglutination: Mit Pferdestamm 3 der XIII. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:12000).**

| *Gruppe* | *Stamm* | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 | 10000 | 12000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 65 | — | — | | | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 40 | — | — | | | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | ± | | | | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | ± | ± | | | | | | | | | | |
| | ,, 69 | + | + | + | ± | ± | ± | Sp | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | + | + | + | ± | ± | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | | |
| XVI | ,, 45 | + | + | + | + | + | + | ± | ± | | | | |
| XVII | ,, 66 | + | + | + | + | + | ± | ± | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | |
| XIX | ,, 74 | + | + | + | + | + | ± | ± | Sp. | | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | | | |

Tabelle 19.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 15 der XIV. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:8000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 11 | ± | ± | ± | | | | | | | |
| | ,, 46 | + | ± | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | + | + | ± | ± | Sp | | | | | |
| | ,, 65 | + | + | ± | ± | | | | | | |
| III | ,, 67 | + | ± | ± | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | ± | | | | | | | | | |
| | ,, 40 | ± | ± | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | ± | ± | | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 69 | — | — | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | ± | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | Sp | | | | | | | | | |
| | ,, 50 | ± | Sp | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | ± | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | ± | Sp | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | ± | Sp | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | + | + | + | ± | ± | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| XV | ,, 29 | + | + | + | + | ± | ± | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | + | + | + | ± | ± | Sp | | | | |
| XIX | ,, 74 | + | + | + | + | + | ± | | | | |
| XX | ,, 58 | ± | | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | ± | ± | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | |
| | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | |

## Tabelle 20.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 29 der XV. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:8000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 65 | — | — | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 40 | — | — | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 69 | — | — | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | — | — | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | ± | ± | ± | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | + | + | + | ± | ± | Sp | | | | |
| XV | ,, 29 | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | ± |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | + | + | + | + | ± | | | | | |
| XIX | ,, 74 | + | + | + | ± | ± | ± | | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | |
| | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | |

### Tabelle 21.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 45 der XVI. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:6000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | |
| II | ,, 24 | ± | | | | | | | | |
| | ,, 65 | ± | Sp | | | | | | | |
| III | ,, 67 | ± | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | |
| V | ,, 21 | ± | ± | | | | | | | |
| | ,, 40 | ± | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 69 | + | + | + | ± | ± | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 60 | + | ± | Sp | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | ± | ± | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | + | + | + | + | ± | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | + | + | + | + | + | + | + | + | ± |
| XVII | ,, 66 | + | + | ± | ± | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | + | + | + | + | + | + | ± | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | |

## Tabelle 22.

### Agglutination: Mit Pferdestamm 66 der XVII. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:4000).

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 3000 | 4000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 11 | ± | | | | | | | | |
| | ,, 46 | Sp | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 65 | — | — | | | | | | | |
| III | ,, 67 | ± | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | |
| V | ,, 21 | + | ± | Sp | | | | | | |
| | ,, 40 | ± | Sp | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 51 | Sp | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 68 | + | ± | Sp | | | | | | |
| | ,, 69 | + | ± | ± | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | ± | Sp | | | | | | | |
| | ,, 49 | + | + | ± | Sp | | | | | |
| | ,, 50 | + | ± | Sp | | | | | | |
| | ,, 60 | + | + | ± | ± | Sp | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | |
| X | ,, 27 | + | ± | Sp! | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | ± | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | + | + | + | + | + | ± | Sp | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | |
| XVII | ,, 66 | + | + | + | + | + | + | + | + | ± |
| XVIII | ,, 71 | + | ± | Sp | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | + | + | + | + | ± | ± | | | |
| XX | ,, 58 | Sp | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | Sp | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | |
| | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | |
| Coli | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | |

## Tabelle 23.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 71 der XVIII. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:10000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 | 10000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 65 | — | — | | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 40 | — | — | | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | + | + | + | ± | ± | | | | | | |
| | ,, 69 | — | — | | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | — | — | | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | + | + | + | + | + | + | + | ± | | | |
| XIV | ,, 15 | + | + | + | + | + | ± | ± | | | | |
| XV | ,, 29 | + | + | + | + | + | + | + | ± | | | |
| XVI | ,, 45 | ± | | | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | + | + | ± | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| XIX | ,, 74 | + | + | + | + | + | ± | ± | Sp | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | + | + | ± | Sp | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | | |

Tabelle 24.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 74 der XIX. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:6000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 65 | — | — | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | |
| V | ,, 21 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 40 | — | — | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 51 | + | ± | Sp | | | | | | |
| | ,, 52 | + | ± | ± | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 69 | + | + | + | + | + | ± | ± | | |
| VIII | ,, 22 | + | ± | ± | Sp | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | |
| | ,, 50 | ± | ± | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | — | — | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | + | + | + | + | ± | ± | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | + | + | + | + | ± | | | | |
| XVI | ,, 45 | + | + | + | + | + | ± | ± | | |
| XVII | ,, 66 | + | + | + | + | ± | Sp | | | |
| XVIII | ,, 71 | + | + | + | + | + | ± | Sp | | |
| XIX | ,, 74 | + | + | + | + | + | + | ± | ± | ± |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | ± | ± | Sp | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | |

**Tabelle 25.**

**Agglutination: Mit Pferdestamm 58 der XX. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:40000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 | 10000 | 12000 | 16000 | 20000 | 24000 | 30000 | 40000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | + | + | + | ± | ± | | | | | | | | | | | |
| | ,, 7 | ± | ± | Sp | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | + | + | ± | ± | ± | Sp | | | | | | | | | | |
| | ,, 46 | + | + | + | + | + | ± | ± | ± | | | | | | | | |
| | ,, 62 | ± | ± | ± | | | | | | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | + | + | + | + | + | + | ± | Sp | | | | | | | | |
| | ,, 65 | + | + | + | + | + | ± | ± | | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | + | + | + | + | + | + | ± | | | | | | | | | |
| | ,, 40 | + | + | + | + | + | ± | ± | ± | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | + | + | + | + | ± | ± | ± | Sp | | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 69 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | + | + | + | ± | ± | ± | Sp | | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | + | + | + | + | ± | Sp | | | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | Sp | | | | | | | | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| XXI | ,, 6 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | | | | | | | |

### Tabelle 26.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 6 der XXI. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:14000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 | 10000 | 12000 | 14000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | Sp | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | ± | | | | | | | | | | | | |
| | ,, 46 | ± | Sp | | | | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | ± | ± | | | | | | | | | | | |
| | ,, 65 | ± | Sp | | | | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | + | + | ± | ± | ± | Sp | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | + | + | ± | | | | | | | | | | |
| | ,, 40 | + | ± | | | | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | + | + | + | + | ± | ± | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 69 | — | — | | | | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | + | ± | ± | ± | ± | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | + | + | + | ± | ± | ± | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | ± | Sp | |
| XXI | ,, 6 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | | | | |

**Tabelle 27.**

**Agglutination: Mit Pferdestamm 19 der XXII. Gruppe** hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:8000).

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 65 | — | — | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 40 | — | — | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 68 | Sp | | | | | | | | | |
| | ,, 69 | — | — | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 50 | Sp | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | — | — | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | ± |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | |

Tabelle 28.

Agglutination: Mit Pferdestamm 23 der XXIII. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:8000).

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 65 | — | — | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 40 | — | — | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 69 | — | — | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | — | — | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | B. paratyphi B | — | — | | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | |

**Tabelle 29.**

**Agglutination: Mit Pferdestamm 61 der XXIV. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:12000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 | 10000 | 12000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 65 | — | — | | | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 40 | — | — | | | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 69 | + | + | + | + | ± | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | — | — | | | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | — | — | | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± |
| XXV | ,, 33 | — | — | | | | | | | | | | |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | | | |

Tabelle 30.

**Agglutination: Mit Pferdestamm 33 der XXV. Gruppe hergestelltes Kaninchenserum (Titer 1:12000).**

| Gruppe | Stamm | 100 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 | 8000 | 10000 | 12000 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | Pferdestamm 1 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 7 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 11 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 46 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 62 | — | — | | | | | | | | | | |
| II | ,, 24 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 65 | — | — | | | | | | | | | | |
| III | ,, 67 | — | — | | | | | | | | | | |
| IV | ,, 12 | — | — | | | | | | | | | | |
| V | ,, 21 | + | ± | Sp | | | | | | | | | |
| | ,, 40 | + | ± | ± | | | | | | | | | |
| VI | ,, 31 | — | — | | | | | | | | | | |
| VII | ,, 18 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 51 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 52 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 68 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 69 | — | — | | | | | | | | | | |
| VIII | ,, 22 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 49 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 50 | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, 60 | — | — | | | | | | | | | | |
| IX | ,, 77 | — | — | | | | | | | | | | |
| X | ,, 27 | — | — | | | | | | | | | | |
| XI | ,, 38 | — | — | | | | | | | | | | |
| XII | ,, 5 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIII | ,, 3 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIV | ,, 15 | — | — | | | | | | | | | | |
| XV | ,, 29 | — | — | | | | | | | | | | |
| XVI | ,, 45 | Sp | | | | | | | | | | | |
| XVII | ,, 66 | ± | ± | | | | | | | | | | |
| XVIII | ,, 71 | — | — | | | | | | | | | | |
| XIX | ,, 74 | — | — | | | | | | | | | | |
| XX | ,, 58 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXI | ,, 6 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXII | ,, 19 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXIII | ,, 23 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXIV | ,, 61 | — | — | | | | | | | | | | |
| XXV | ,, 33 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | ± |
| | B. paratyphi A | — | — | | | | | | | | | | |
| Enge Paratyphus B | ,, paratyphi B | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, suipestifer | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, Aertryk Nobele | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, typhi murium | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, psittac. Nocard | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, enter. Gaertner | — | — | | | | | | | | | | |
| Coli | ,, coli commune | — | — | | | | | | | | | | |
| | ,, coli mutabile | — | — | | | | | | | | | | |

Stämmen aus Pferdemist spricht auch die Beobachtung, daß die mit den Vertretern der letzteren hergestellten agglutinierenden Immunsera die erstgenannten Kulturen völlig unbeeinflußt lassen.

4. Bemerkenswert ist, daß auch bei gleichen kulturellen und biologischen Eigenschaften verschiedener Stämme aus Pferdemist eine Identität derselben untereinander nicht immer angenommen werden kann, da die Agglutinationsprüfung gezeigt hat, daß auch sonst gleichartige sich agglutinatorisch scharf voneinander trennen lassen, was man besonders von den Stämmen der Gruppe VII sagen kann.

5. Die serologische Verwandtschaft einiger Stämme verschiedener Gruppen mit biologisch ungleichen Merkmalen wird durch die Übereinstimmung des Kolonietypus bestätigt.

### 5. Der Kolonietypus.

Die von Felsenreich und Trawiński (l. c.) beschriebene Methode der Kolonienbeobachtung wurde an einem außerordentlich umfangreichen Untersuchungsmaterial weiter verfolgt und hat stets dieselben eindeutigen Resultate hinsichtlich der Differenzierung der bekannten Vertreter der Typhus-Coli-Gruppe gegeben. Allerdings müssen wir hier auf Beobachtungen während des heurigen strengen Winters aufmerksam machen, die geeignet erscheinen könnten, die beschriebenen konstanten Charakteristika bei Nichtbeachtung der äußeren Umstände als nicht zutreffend zu bezeichnen. Meist sinkt die Temperatur in den Laboratoriumsräumen während der kalten Winternächte recht stark herab, wodurch das Wachstum der Kolonien auf den Platten, welche nach vorheriger Bebrütung zur weiteren Beobachtung auf den Tischen stehen gelassen wurden, stark beeinträchtigt wird. So z. B. bildet der Paratyphus B auf solchen Platten am zweiten Tage nur Spuren von Schleim, der manchmal erst am dritten Tage deutlicher zu sehen ist. Es empfiehlt sich daher im Winter die Platten in Räumen von einer Temperatur von etwa 15 bis 16° C über die Nacht zu halten, ein Vorgang, den wir bei unseren Versuchen stets eingehalten haben. Probeweise ließen wir manchmal Platten im ungeheizten Zimmer über Nacht stehen und konnten dabei große Differenzen im Aussehen der Kolonie zwischen diesen Kulturen und anderen, die im geheizten Zimmer standen, wahrnehmen.

Nach dem Kolonietypus lassen sich die 77 aus Pferdemist gezüchteten Stämme in 18 Gruppen einteilen, die teils mit den früher erwähnten auf

Grund des biologischen Verhaltens aufgestellten Gruppen sich decken, teils aber ineinander übergreifen. Die nachfolgende Tabelle B gibt die Übersicht über diese Gruppenanordnung nach dem Kolonietypus.

Tabelle B.

| Kolonie-typus | Biologische Gruppe | Stämme |
|---|---|---|
| 1 | I | 1, 7, 11, 46, 62 |
| | II | 24, 65 |
| | III | 67 |
| | V | 21, 40 |
| 2 | IV | 12 |
| 3 | VI | 31 |
| 4 | VII | 69 |
| 5 | | 51 |
| 6 | VII | 18 |
| | XI | 36, 38 |
| 7 | VII | 52, 68 |
| | VIII | 22, 49, 50, 60 |
| 8 | IX | 77 |
| 9 | X | 27 |
| 10 | XII | 5 |
| 11 | XIII | 3, 9, 16, 17, 30, 35, 37, 39, 42, 43, 54, 55, 57, 70, 73, 76 |
| 12 | XIV | 13, 15, 41, 59, 63, 72, 75 |
| | XV | 29, 34, 64 |
| | XVIII | 26, 47, 71 |
| | XIX | 56, 74 |
| 13 | XVI | 8, 25, 44, 45 |
| 14 | XVII | 66 |
| 15 | XX | 2, 4, 10, 14, 20, 28, 32, 48, 58 |
| | XXI | 6 |
| | XXII | 19 |
| 16 | XXIII | 23 |
| 17 | XXIV | 53, 61 |
| 18 | XXV | 33 |

Typus 1.

Erster Beobachtungstag (d. h. nach 16stündiger Bebrütung bei 37° C und 5stündigem Belassen bei Zimmertemperatur): Die Kolonie besitzt die Form einer abgeflachten Kuppe mit einer aufgesetzten, ziemlich steilen Kuppe, die zentral ein winziges kraterförmiges Loch besitzt. Eine scharfe Differenzierung dieser beiden Körper läßt sich nicht wahrnehmen. Ein Randsaum tritt kaum zum Vorschein. Die Oberfläche der Grundkuppe ist rauh, diejenige der aufgesetzten Kuppe leicht lochartig ausgestanzt. Die Durchsichtigkeit ist recht stark. Mäßig große, kaum irisierende Granula stehen im peripheren Anteile in ziemlich locker verfilzter karierter Anordnung, gegen das Zentrum verdichten sie sich, jedoch ziemlich unvermittelt. Im durchfallenden Licht sind zwei Schichten zu unterscheiden, die sich aber nicht scharf trennen lassen.





**Zweiter Beobachtungstag** (d. h. nach weiterem 16stündigem Belassen der Platten bei Zimmertemperatur): Die Grundkuppe hat sich zu einem Kegelstutz mit recht breiter Basis entwickelt. Die aufgesetzte Kuppe erhebt sich jetzt von der Stutzfläche und ist von einem tiefen, ringförmigen Graben umgeben; das zentrale Loch ist vorhanden. Der am Vortag kaum sichtbare Randsaum ist durch die unteren Randpartien des Kegelstutzes völlig überdeckt. Die Oberfläche des Kegelstutzes ist rauh und ziemlich stark gehöckert, diejenige der aufgesetzten Kuppe ebenso wie am Vortage. Die Durchsichtigkeit hat etwas abgenommen, die Granulierung ist unverändert.

**Dritter Beobachtungstag** (d. h. nach weiterem 24stündigem Belassen der Platten bei Zimmertemperatur): Der Kegelstutz wie auch die aufgesetzte Kuppe sind flacher, der ringförmige Graben etwas seichter. Das zentrale Loch ist weniger deutlich zu sehen, als am ersten bzw. zweiten Beobachtungstag. Bei gut entwickelten Kolonien sind im Bereiche der Randpartien des Kegelstutzes zwei bis drei konzentrische Abstufungen vorhanden. Die Oberfläche der aufgesetzten Kuppe ist fast glatt. Die Durchsichtigkeit der ganzen Kolonie hat nur wenig abgenommen, die Granulierung ist in dem peripheren Anteil etwas dichter, im zentralen aber recht dicht geworden.

In den **folgenden Tagen** wird der Kegelstutz noch flacher; die konzentrischen Abstufungen (4 bis 5) sind stärker ausgebildet. Die aufgesetzte Kuppe nimmt die Form eines etwas abgestumpften Kegels an, der leicht gelblich verfärbt ist, was schon makroskopisch im schräg einfallenden Lichte sichtbar ist. Diese Kolonien sind am durchsichtigsten von sämtlichen im nachfolgenden beschriebenen Typen. Die Art der Granulierung läßt sich nur mehr in den peripheren Anteilen erkennen. (Fig. 1.)

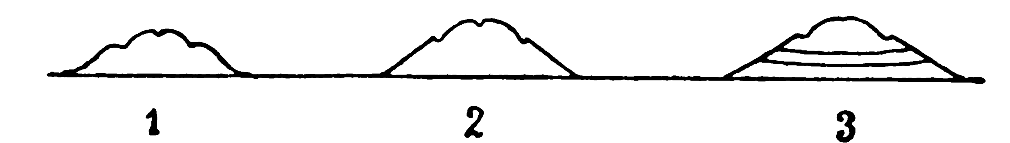



**Fig. 1.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.**

Typus 2.

**Erster Beobachtungstag**: Die Kolonie besitzt die Form einer recht steilen Kuppe; ein Randsaum ist nicht vorhanden. Die Oberfläche ist rauh, die Durchsichtigkeit gering. Mäßig kleine Granula stehen recht dicht nebeneinander, und nur hart an der Peripherie läßt sich eine karierte Granulierung feststellen.



Zweiter Beobachtungstag: Die Kolonie hat sich wesentlich verändert und stellt sich als eine wenig erhabene, stark abgeflachte Kuppe dar, auf deren zentralen Partien sich eine ziemlich steile, gut ausgebildete Kuppe befindet, die nur bei sehr gut entwickelten Kolonien eine zentrale feine kraterförmige Vertiefung besitzt. Ein Randsaum fehlt. Die Oberfläche der abgeflachten Kuppe ist gefurcht und in den oberen abgeflachten Anteilen auch etwas gehöckert; die Randpartien der aufgesetzten Kuppe sind glatt und glänzend, die zentralen Teile leicht gefurcht. Die den Randpartien der Grundkuppe entsprechenden peripheren Anteile der Kolonie sind ziemlich durchsichtig, die zentralen dagegen recht opak. Die aufgesetzte Kuppe besitzt im schräg einfallenden Licht eine grauweiße Farbe und unterscheidet sich dadurch schon bei Betrachtung mit unbewaffnetem Auge von der Grundkuppe. Der Granulierung nach lassen sich im durchfallenden Licht zwei Schichten voneinander trennen; eine periphere, die im Durchmesser etwa die Hälfte der Kolonie in Anspruch nimmt und aus kleinen, in ziemlich dichter karierter Anordnung lagernden Granulis besteht, und eine zentrale, recht dichte Schicht, die die Art der Granulierung nicht erkennen läßt und als eine gelblich verfärbte homogene Scheibe erscheint.

Dritter Beobachtungstag: Im allgemeinen ist die Form der Kolonie unverändert geblieben. Von der Basis aufwärts in etwa ein Drittel der Höhe hat sich im Bereiche der Randpartien der abgeflachten Kuppe eine gut sichtbare Abstufung ausgebildet, die die Randpartien in einen schmäleren unteren, rauhen und breiteren oberen ziemlich stark gehöckerten Teil trennt. Bei gut entwickelten Ansiedlungen kann man im Bereiche des oberen Teiles noch eine Abstufung wahrnehmen. Die aufgesetzte Kuppe hat an Größe etwas zugenommen; die zentrale Vertiefung ist jetzt nicht mehr zu sehen, die grauweiße Verfärbung tritt deutlicher hervor. Die Kolonie ist besonders in den zentralen Anteilen ziemlich opak, die Granulierung etwas dichter.

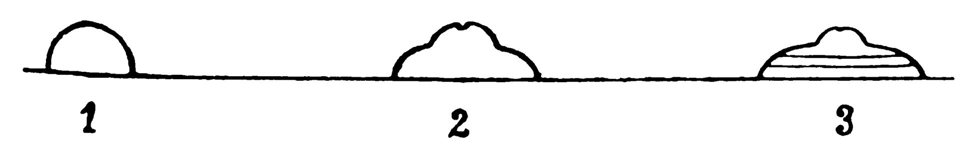



**Fig. 2.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.**

In den folgenden Tagen sind die erwähnten Abstufungen stärker entwickelt; manchmal kommt noch eine dritte zum Vorschein. Auf den oberen Anteilen der aufgesetzten Kuppe sind von der Peripherie radiär



verlaufende, kleine, recht tiefe Furchen zu sehen, die im Zentrum nicht zusammentreffen. Während die Oberfläche der Grundkuppe eine matte Beschaffenheit annimmt, ist diejenige der aufgesetzten Kuppe gefurcht und etwas glänzend. Die zentralen, der aufgesetzten Kuppe entsprechenden Anteile der Kolonie sind opaker als die peripheren. Die Granulierung läßt sich infolge starker Verdichtung nicht mehr differenzieren. (Fig. 2).

### Typus 3.

Erster Beobachtungstag: Die Kolonie besitzt die Form eines recht flachen Kuppenstutzes mit einer aufgesetzten, ziemlich steilen Kuppe, die in die Stutzfläche des Kuppenstutzes leicht eingesenkt und von den peripheren Anteilen derselben durch einen seichten, ringförmig verlaufenden Graben getrennt ist. Im Zentrum der aufgesetzten Kuppe befindet sich eine oberflächliche, lochartige Ausstanzung. Der recht gut entwickelte Randsaum ist glatt und setzt sich von den unteren Randpartien des Kuppenstutzes scharf ab. Die matte Oberfläche des Kuppenstutzes geht allmählich in die glatte und feuchtglänzende der aufgesetzten Kuppe über. Die Kolonie ist mäßig opak, die Granulierung dieselbe wie bei Typus 1.

Zweiter Beobachtungstag: Die Kolonie hat sich im wesentlichen nur wenig verändert gegenüber dem Vortag. Die aufgesetzte Kuppe ist flacher, der ringförmige Graben breiter und die lochartige, zentrale Ausstanzung tritt weniger deutlich hervor. Der ringförmige Graben trennt die beiden Körper sichtbar voneinander. Der Randsaum ist schmäler und geht bogenförmig auf die unteren Randpartien des Kuppenstutzes über, in deren Bereich, und zwar etwa in der Hälfte der Höhe, eine gut ausgebildete, kreisförmige Etage vorhanden ist. Die Beschaffenheit der Oberfläche ist unverändert. Die Durchsichtigkeit hat nur wenig abgenommen, die Granulierung ist etwas dichter.

Dritter Beobachtungstag: Die Kolonie ist flacher und breiter. Die erwähnte zentrale Einsenkung an der aufgesetzten Kuppe ist nicht mehr vorhanden. Der ringförmige Graben wird breiter und flacher. Der Randsaum ist völlig in die unteren Randpartien des Kuppenstutzes eingezogen, in deren Bereiche, und zwar von der erwähnten ersten Etage aufwärts, zwei, manchmal auch drei konzentrisch angeordnete Etagen vorhanden sind. Die Oberfläche des Kuppenstutzes ist etwas rauh, diejenige der aufgesetzten Kuppe unverändert. Die Kolonie ist mäßig opak, im durchfallenden Lichte leicht milchig getrübt; zentral läßt sich eine gelbliche Verfärbung wahrnehmen. Durch das Dichterwerden der Granula ist die Art der Granulierung nicht mehr erkennbar.



In den folgenden Tagen wird der Kuppenstutz stärker abgeflacht und noch breiter; dasselbe läßt sich auch von der aufgesetzten Kuppe sagen. Von der ursprünglichen ersten Etage aufwärts gegen die Basis der aufgesetzten Kuppe verlaufen radiär 6 bis 8 Furchen, welche die konzentrisch angelegten Etagen durchkreuzen. Die Kolonie wird immer opaker und leicht bläulich verfärbt. (Fig. 3.)

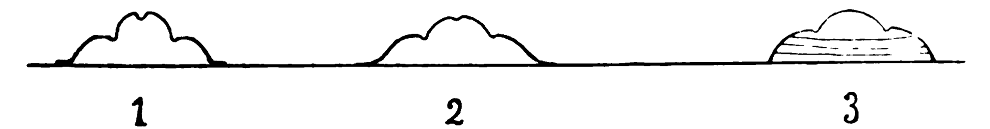



**Fig. 3.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.**

Typus 4.

Erster Beobachtungstag: Die Kolonie gleicht einer gut entwickelten, recht flachen Platte, deren Randpartien bogenartig gegen die Basis abfallen; zentral befindet sich eine kraterförmige Vertiefung. Der gut entwickelte, radiär gefaltete und gezackte Randsaum setzt sich von den Randpartien scharf ab. Die Oberfläche der Randpartien ist matt, diejenige der oberen Plattenfläche rauh, leicht gehöckert und manchmal auch gefurcht. Die Durchsichtigkeit ist ziemlich stark. Mäßig große Granula stehen in karierter, ziemlich lockerer Anordnung; gegen das Zentrum läßt sich ein ganz leichtes Verschwimmen derselben feststellen.

Zweiter Beobachtungstag: Die Form der Kolonie ist fast unverändert. Die Durchsichtigkeit hat gleichmäßig stark abgenommen, die Granulierung ist etwas dichter und irisiert deutlicher als am Vortage.

Dritter Beobachtungstag: Durch die breiter gewordene Platte wird der Randsaum größtenteils überdeckt, so daß er nun kaum mehr sichtbar ist. Die zentrale Partie ist flacher und von der lochartig ausgestanzten oberen Plattenfläche schwer zu unterscheiden. Im Bereiche der Randpartien befindet sich eine recht deutliche, kreisförmig verlaufende Abstufung. Die Oberfläche der Randpartien ist rauh und runzelig, diejenige der oberen Plattenpartien runzelig und ziemlich stark lochartig ausgestanzt. Die Durchsichtigkeit hat stark abgenommen. Die Kolonie besitzt ein grauweißes opakes Aussehen. Die Granulierung ist verändert; in der peripheren, schwächer irisierenden Schichte ist noch das karierte Bild zu sehen, während in der zentralen stärker irisierenden Partie die Granula so dicht nebeneinander gelagert sind, daß einzelne Maschen nicht mehr wahrzunehmen sind.

In den folgenden Tagen entwickelt sich die Kolonie der Breite nach und nimmt mehr die Form eines abgestutzten, recht flachen Kegels an, dessen Randpartien mehrere konzentrisch angeordnete Abstufungen erkennen lassen. Diese sind bei gut isolierten und entwickelten Kolonien schon makroskopisch sichtbar und bilden eine Terrasse, ähnlich wie eine 5 bis 6 Tage alte Typhuskolonie. Der Randsaum ist fast völlig eingezogen, und nur einzelne stärker ausgebildete Zacken desselben sind noch sichtbar; diese greifen auf die unteren Randpartien der Kolonie über und bedingen ein radiär gestreiftes Aussehen dieser Kolonieanteile. Die Oberfläche der Randpartien ist runzelig, die der oberen Anteile etwas runzelig und nur leicht lochartig ausgestanzt. Die Kolonie ist sehr opak und grauweiß verfärbt. Die Granulierung läßt sich nur mehr dicht an der Peripherie erkennen. (Fig. 4.)

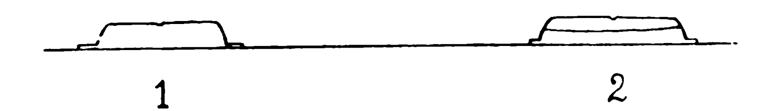



Fig. 4.
Schematische Darstellung.
1 erster, 2 zweiter und dritter Beobachtungstag.

Typus 5.

Erster Beobachtungstag: Die Kolonie stellt sich als eine flache Kuppe mit recht hoch abgestutzter Fläche dar, die durch eine scharfe, gut sichtbare, ringförmige Einschnürung von den oberen Randpartien abgegrenzt ist und im Zentrum eine winzige Vertiefung besitzt. Der nur schwach ausgebildete Randsaum ist radiär gefaltet, ziemlich stark gezackt und setzt sich vom Kuppenstutz scharf ab. Die Oberfläche der Randpartien ist matt, die der Stutzfläche glatt. Die Durchsichtigkeit ist gering. Mäßig große Granula lagern sich an der Peripherie in einer gitterförmigen Anordnung, in zentralen Partien stehen sie recht dicht nebeneinander, so daß ihre Struktur nicht erkannt werden kann.

Zweiter Beobachtungstag: Die zentralen Anteile des Kuppenstutzes haben sich zu einem recht flachen, abgestumpften Kegel entwickelt, der in der Mitte eine feine, oberflächlich ausgestanzte, lochartige Vertiefung besitzt. Die Kolonie hat somit die Form eines Kuppenstutzes mit einem aufgesetzten flachen Kegel, welch letzterer von den oberen Randpartien des Kuppenstutzes durch einen recht breiten, aber seichten, ringförmig verlaufenden Graben, der der scharfen Einschnürung des Vortages entspricht, getrennt ist. Der Randsaum ist kaum zu sehen. Die Oberfläche

des Kuppenstutzes ist rauh und geht in die glatte des aufgesetzten Kegels über. Die Kolonie ist recht opak, die Granulierung wie am Vortage. Im durchfallenden Lichte ist besonders zentral ein leicht grüner Schimmer wahrnehmbar.

Dritter Beobachtungstag: Der Kuppenstutz ist breiter und flacher, der aufgesetzte Kegel ebenfalls bedeutend flacher. Das zentrale Loch ist deutlicher ausgebildet. Der äußere Rand des ringförmig verlaufenden Grabens ist durch stärkeres Emporwuchern einem ziemlich erhabenen Wall ähnlich. Der Randsaum ist völlig überdeckt. Die Oberfläche des Kuppenstutzes ist rauh und leicht gehöckert; der aufgesetzte Kegel ist glatt und glänzend. Die jetzt noch opakere Kolonie besitzt eine grauweiße Farbe. Die Granulierung ist nur peripher erkennbar.

Der Kuppenstutz und der aufgesetzte Kegel sind in den folgenden Tagen flacher geworden. Die zentrale Vertiefung ist noch in der Form einer leichten Einsenkung vorhanden. Im Bereiche der Randpartien des Kuppenstutzes entwickeln sich 4 bis 6 konzentrisch verlaufende Etagen. Die Kolonie ist sehr opak, die Granulierung auch peripher recht dicht. (Fig. 5.)

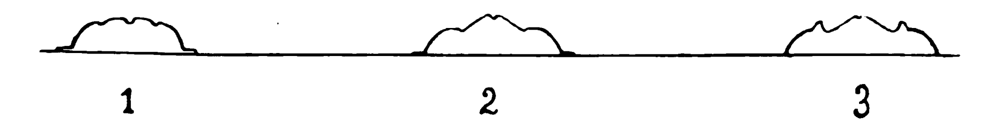



**Fig. 5.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.**

### Typus 6.

Erster Beobachtungstag: Die Kolonie besitzt die Form einer gut ausgebildeten Kuppe mit zentraler, feiner lochartiger Vertiefung. Ein Randsaum ist nicht vorhanden. Die Oberfläche ist mattglänzend. Die ziemlich starke Durchsichtigkeit der peripheren Partien nimmt gegen das Zentrum gleichmäßig ab. Mäßig große Granula lagern sich an der Peripherie zu quadratartigen, eingeschachtelten Figuren, die sich gegen die Mitte der Kolonie immer mehr verdichten.

Zweiter Beobachtungstag: Durch kräftigeres Wuchern der oberen Anteile ist es zur Entwicklung einer aufgesetzten Kuppe gekommen, die die zentrale Vertiefung trägt und von der jetzt etwas abgeflachten Grundkuppe durch einen recht tiefen und ziemlich breiten ringförmigen Graben abgegrenzt ist. Ein Randsaum fehlt. Die Oberfläche der Grundkuppe ist rauh und etwas gehöckert und läßt sich von dem glatten ringförmigen






Graben und der recht glatten aufgesetzten Kuppe scharf differenzieren. Die Kolonie ist ziemlich opak, die Granulierung dichter als am Vortage.

Dritter Beobachtungstag: Im Bereiche der Randpartien der Grundkuppe haben sich ein bis zwei konzentrisch angeordnete Abstufungen ausgebildet. Das zentrale Loch ist deutlicher und von den oberen Partien der aufgesetzten Kuppe scharf abgegrenzt. Die Oberflächenbeschaffenheit ist unverändert. Die Kolonie ist völlig undurchsichtig und die Granulierung stark verdichtet.

In den folgenden Tagen wird die Kolonie flacher und breiter. Bei gut isolierten Ansiedlungen sieht man drei bis vier konzentrisch angelegte Abstufungen. Sonst finden keine nennenswerten Veränderungen statt, abgesehen davon, daß die Kolonie ziemlich deutlich gelblich verfärbt ist. (Fig. 6.)

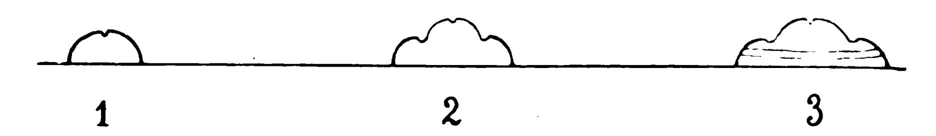



**Fig. 6.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.**

Typus 7.

Erster Beobachtungstag: Die Kolonie entspricht einer mäßig erhabenen Platte, deren obere zentrale Anteile leicht konusartig emporgehoben sind. Die rauhen Randpartien fallen von der oberen matten Plattenfläche schräg gegen die Basis ab. Der ziemlich gut entwickelte, radiär grob gefaltete Randsaum setzt sich von den unteren Randpartien scharf ab. Die Durchsichtigkeit ist gering. Mäßig große, ziemlich stark irisierende Granula lagern sich an der Peripherie in karierter Anordnung mit recht breiten Maschen, gegen die Mitte zu sind sie gleichmäßig verdichtet und irisieren immer weniger.

Zweiter Beobachtungstag: Die Randpartien sind ein wenig ausgewölbt. Die oberen Anteile haben sich zu einem recht flachen Kegel entwickelt, der durch einen ringförmigen Graben von der Plattenfläche abgegrenzt ist. Der am ersten Beobachtungstage so gut sichtbare Randsaum ist durch die unteren Randpartien der Platte völlig überdeckt. Ein wichtiges Charakteristikum bietet der ringförmige Graben, der radiär recht grob gestreift ist, was schon makroskopisch sichtbar werden kann. Die Oberfläche der Randpartien der Platte ist matt, diejenige des aufgesetzten Kegels glatt; durch den ringförmigen Graben ist die Differenzierung dieser

beiden Oberflächenbeschaffenheiten leicht erkennbar. Die Durchsichtigkeit hat etwas abgenommen, die Granulierung ist unverändert.

Dritter Beobachtungstag: Der Form nach bleibt die Kolonie im allgemeinen unverändert. Es wäre nur zu bemerken, daß der ringförmige Graben breiter und die radiäre Streifung noch deutlicher ist. Die Durchsichtigkeit hat nur wenig abgenommen, die Granulierung ist dichter geworden.

In den folgenden Tagen treten auf den Randpartien der plattenförmigen Kolonieanteile zwei bis drei konzentrische Abstufungen auf. Die Kolonie ist nicht so opak, wie die bisher beschriebenen Formen. Vom vierten Tag angefangen, ist die Granulierung so stark verdichtet, daß man eine Zeichnung nicht mehr wahrnehmen kann. (Fig. 7.)

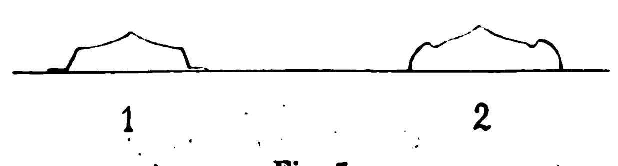



Fig. 7.
Schematische Darstellung.
1 erster, 2 zweiter und dritter Beobachtungstag.

## Typus 8.

Am ersten Beobachtungstag ist die Kolonie vollkommen derjenigen des Typus 7 ähnlich, weshalb auch von einer genauen Beschreibung Abstand genommen werden kann.

Zweiter Beobachtungstag: Die ursprüngliche Platte hat sich zu einem Kuppenstutz entwickelt, dessen zentrale Anteile leicht konusartig emporgehoben sind. Der Randsaum ist zum Teil durch die Randpartien überdeckt, weshalb er auch weniger deutlich zum Vorschein tritt; er geht bogenförmig auf den Kuppenstutz über. Die Oberfläche der Randpartien ist etwas rauh und nimmt allmählich eine matte und stellenweise leicht gefurchte Beschaffenheit der Stutzfläche an. Die Durchsichtigkeit ist fast unverändert, die Granulierung etwas dichter als am Vortage.

Dritter Beobachtungstag: Die Form der Kolonie hat sich fast nicht verändert. Durch kräftigeres Wuchern der Randpartien ist der Randsaum völlig überdeckt. Die Oberfläche der Randpartien ist unverändert, diejenige der Stutzfläche leicht gehöckert; die zentrale konusartige Erhebung ist fast glatt. Durch die markante Linie, welche zwischen den oberen Randpartien und der Stutzfläche der Kolonie sich befindet, läßt sich die Oberflächenbeschaffenheit der Randpartien von der Stutzfläche deutlich differenzieren. Die Durchsichtigkeit hat stark abgenommen.



Die Granulierung zeigt eine mäßig starke Verdichtung, die Granula irisieren schwächer.

In den folgenden Tagen bilden sich im Bereiche der Randpartien konzentrisch verlaufende Etagen (4 bis 6). Die oberste Etage verläuft an der Basis der konusartigen Erhebung der Stutzfläche, wodurch dieselbe von den peripheren Partien der letzteren getrennt ist und sich als ein kleiner Kegel darstellt. Die Oberfläche der ganzen Kolonie bleibt fast unverändert, die Ansiedelung selbst ist ziemlich opak und leicht milchig getrübt. Die Granulierung ist nun auch an der Peripherie kaum mehr zu sehen. (Fig. 8.)

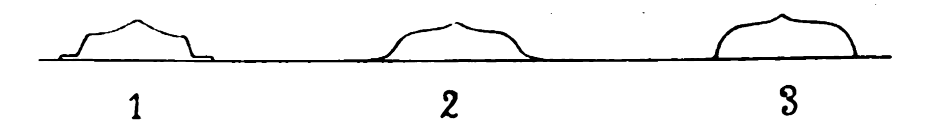



**Fig. 8.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.**

## Typus 9.

Erster Beobachtungstag: Die Form der Kolonie entspricht einem flachen Kegelstutz mit einem aufgesetzten Kegel, der sich von der Stutzfläche leicht erhebt und in der Mitte eine feine, lochartige Vertiefung besitzt. Ein Randsaum ist nicht vorhanden. Die Oberfläche des Kegelstutzes ist etwas rauh und geht allmählich in die matte des aufgesetzten Kegels über. Die Kolonie ist ziemlich opak. Mäßig große Granula lagern sich in den peripheren Anteilen zu einer gitterförmigen, aus engen Maschen zusammengesetzten Anordnung und verdichten sich immer mehr gegen das Zentrum.

Zweiter Beobachtungstag: Der Kegelstutz hat an Größe zugenommen, die Randpartien fallen gegen die Basis mehr schräg ab als am Vortage. Die Stutzfläche ist leicht eingesenkt, der aufgesetzte Kegel ist flach und abgestumpft, die bestandene zentrale Vertiefung nicht mehr sichtbar. Ein Randsaum fehlt. Die Oberfläche der Randpartien des Kegelstutzes ist etwas rauh und radiär gefaltet, was durch von der Basis gegen die Randpartien radiär verlaufende Streifen bedingt ist. Einzelne Streifen sind an der Basis der Kolonie stärker ausgebildet, gegen die Stutzfläche zu werden sie immer weniger vorspringend. Die Oberfläche des aufgesetzten Kegels ist unverändert. Die Durchsichtigkeit ist gegenüber dem Vortage etwas herabgesetzt, die Granulierung dichter.



Dritter Beobachtungstag: Die Stutzfläche ist weniger konkav, der aufgesetzte Kegel flacher. Etwa in der Hälfte der Höhe der Randpartien des Kegelstutzes ist eine grabenförmig verlaufende Etage ausgebildet, die durch die erwähnten radiären Streifen durchkreuzt wird. Die letzteren sind stärker entwickelt und treten auch deutlicher hervor. Die Oberfläche des Kegelstutzes ist rauh und gefurcht, diejenige der Stutzfläche matt und in den abgestumpften zentralen Partien leicht lochartig ausgestanzt. Die Durchsichtigkeit ist unverändert, die Granulierung so stark verdichtet, daß eine Differenzierung der peripheren und zentralen Anteile kaum wahrnehmbar ist.

In den folgenden Tagen sind außer der Zunahme der Zahl der grabenförmigen, konzentrisch angelegten Etagen keine nennenswerten Änderungen zu verzeichnen. (Fig. 9.)

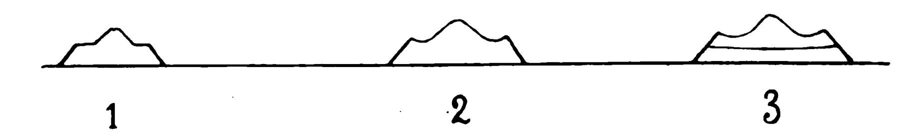



**Fig. 9.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.**

Typus 10.

Erster Beobachtungstag: Die Kolonie stellt sich als eine flache Kuppe mit etwas konusartig emporgehobenen zentralen Anteilen dar, in deren Mitte sich ein feines Loch befindet. Der gut entwickelte, radiär gefaltete und feingezähnte Randsaum geht bogenförmig auf die unteren Randpartien der Kuppe über. Die Oberfläche ist rauh und leicht gefurcht, die Durchsichtigkeit ziemlich deutlich. Mäßig kleine, in karierter ziemlich dichter Anordnung befindliche Granula treten gegen das Zentrum besonders nahe aneinander, wodurch die Differenzierung einzelner Maschen nicht mehr möglich wird.

Zweiter Beobachtungstag: Die Form der Kolonie hat sich wesentlich verändert, insofern, als die Kuppe sich zu einem flachen Kegelstutz und die zentrale konusartige Erhebung zu einem recht flachen aufgesetzten Kegel ausgebildet hat, welch letzterer in der Mitte eine kraterartige Vertiefung trägt und von einem ringförmigen, ziemlich tiefen Graben umgeben ist; der Randsaum ist schmäler als tags zuvor. Die Oberfläche des Kegelstutzes ist rauh und gefurcht, diejenige des ringförmigen Grabens matt und fein löcherig, und die des aufgesetzten Kegels matt. Die Durchsichtigkeit hat nur wenig abgenommen, die Granulierung der zentralen



Anteile hat sich noch stärker verdichtet, weshalb die Kolonie hier als eine homogene, gelblich verfärbte Masse erscheint.

Dritter Beobachtungstag: Der Kegelstutz ist breiter und flacher, der aufgesetzte Kegel unverändert, der ringförmige Graben breiter und tiefer. Im Bereiche der oberen Randpartien des Kegelstutzes ist eine ringförmige Abstufung zur Ausbildung gekommen. Der Randsaum ist nunmehr kaum sichtbar. Die Oberfläche, Durchsichtigkeit und die Granulierung sind unverändert geblieben.

In den folgenden Tagen bleibt die Form der Kolonie im wesentlichen gleich, nur im Bereiche der Randpartien des Kegelstutzes bilden sich drei bis vier ringförmige Abstufungen. (Fig. 10.)

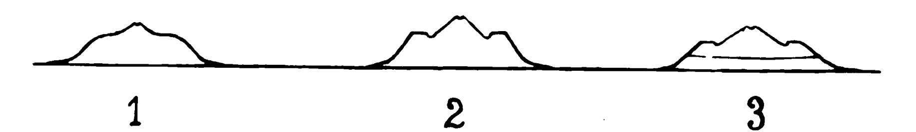



**Fig. 10.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.**

### Typus 11.

Erster Beobachtungstag: Die Kolonie erscheint als eine flache Kuppe mit einer aufgelagerten recht steilen Kuppe. Der ziemlich stark entwickelte, radiär feingefaltete und gezackte Randsaum greift bogenförmig auf die unteren Randpartien der Grundkuppe über, wobei zu bemerken ist, daß besser ausgebildete Falten vereinzelter Zacken sich auf die Randpartien fortsetzen. Die Oberfläche ist matt, die Durchsichtigkeit gering. Mäßig große Granula vereinigen sich in den peripheren Anteilen der Kolonie zu rhombusartigen, eingeschachtelten Figuren, die gegen die Mitte reichen und nur zentral ein wenig verdichtet sind.

Zweiter Beobachtungstag: Der Form nach ist die Kolonie fast unverändert. Die aufgesetzte Kuppe weist in der Mitte eine winzige Vertiefung auf, der Randsaum tritt nicht hervor. Die auf die unteren Randpartien der Grundkuppe übergreifenden Falten des Randsaumes sind zu dieser Zeit noch spurenweise vorhanden. Die Oberfläche der Grundkuppe ist rauh und ein wenig gehöckert, diejenige der aufgesetzten Kuppe glatt und glänzend, wobei der Übergang ein allmählicher ist. Die Kolonie ist recht stark opak; die zentralen Anteile der aufgesetzten Kuppe zeigen im schräg einfallenden Licht eine grauweiße, recht dichte Verfärbung. Die zentrale Verdichtung der Granulierung hat zugenommen; im durchfallenden Lichte lassen sich jetzt genau zwei Schichten voneinander unter-



scheiden, und zwar eine periphere, stark irisierende, mit rhombusartigen eingeschachtelten Figuren, und eine zentrale recht dichte, gelblich verfärbte.

Dritter Beobachtungstag: Die Kolonie hat sich in ihrer Form und Oberfläche nicht verändert, abgesehen davon, daß sie etwas flacher geworden ist, und die grauweiße dichte Verfärbung sich auf die ganze aufgesetzte Kuppe erstreckt und ihr einen glänzenden, porzellanartigen Charakter gibt. Die Ansiedelung ist besonders in den zentralen, der aufgesetzten Kuppe entsprechenden Partien sehr stark opak; die Granulierung hat sich nicht geändert.

In den folgenden Tagen wird die Grenze zwischen der Grundkuppe und der aufgesetzten Kuppe verwischt, so daß eine scharfe Trennung dieser beiden Körper erschwert ist. Die grauweiße Verfärbung ist auch an den oberen Randpartien der Grundkuppe zu sehen, so daß nur ein schmaler basaler Streifen von ursprünglicher Farbe bleibt. Die Granulierung ist nur dicht an der Peripherie erkennbar, rhombusartige Figuren sind jedoch nicht mehr zu sehen. (Fig. 11.)




**Fig. 11.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter und dritter Beobachtungstag.**

Typus 12.

Erster Beobachtungstag: Die Kolonie besitzt die Form eines flachen Kegelstutzes mit einer aufgesetzten, gut entwickelten Kuppe, die im Zentrum eine ziemlich gut ausgebildete, kraterförmige Vertiefung besitzt. Der radiär gefaltete und recht stark gezackte Randsaum geht bogenförmig auf die Randpartien des Kegelstutzes über. Die Oberfläche des letzteren ist matt, die der aufgesetzten Kuppe rauh. Die Durchsichtigkeit gleicht der einer Paratyphus B-Kolonie. Mäßig große, schwach irisierende Granula stehen in den peripheren Anteilen der Kolonie in ziemlich lockerer Anordnung zu rhombusartigen Figuren vereint; zentral läßt sich ein leichtes Verdichten derselben unter Bildung einer rötlichen Verfärbung feststellen.

Zweiter Beobachtungstag: Die Form der Kolonie hat sich wesentlich verändert. Durch kräftiges Wuchern der oberen Randteile ist der Kegelstutz höher geworden und überdeckt die unteren Randpartien der aufgesetzten Kuppe in dem Maße, daß nur die oberen Anteile derselben übrig geblieben sind. Wir haben somit einen ziemlich steilen, recht hoch

abgestutzten Kegel, auf dessen Stutzfläche sich die oberen matten und feinlöcherigen Anteile der ursprünglich aufgesetzten Kuppe mit der zentralen kraterförmigen Vertiefung befinden und durch einen seichten ringförmigen Graben von den rauhen und gehöckerten Randpartien des Kegelstutzes getrennt sind; der Randsaum ist kaum sichtbar. Die Durchsichtigkeit hat deutlich abgenommen, die zentralen Partien der Kolonie zeigen im schräg einfallenden Lichte eine grauweiße Verfärbung. Die Granulierung ist fast unverändert geblieben, die erwähnte zentrale rötliche Verfärbung tritt deutlicher hervor und nimmt im Durchmesser etwa die Hälfte der Ansiedelung in Anspruch. Im durchfallenden Lichte ist also eine periphere, leicht bläulich verfärbte und deutlich granulierte Schicht und eine zentrale, stark verdichtete, rötlich verfärbte Partie zu erkennen.

Dritter Beobachtungstag: Die Kolonie ist nur insofern verändert, als im Bereiche der Randpartien des Kegelstutzes zwei bis drei konzentrisch angelegte Abstufungen vorhanden sind, und der Randsaum nicht mehr sichtbar ist. Die Kolonie ist recht opak und grauweiß verfärbt, die Granulierung hat sich auch in den peripheren Partien stark verdichtet.

In den folgenden Tagen wird die Kolonie immer flacher und breiter, recht opak, stark grauweiß verfärbt und ziemlich glänzend. Bei manchen Ansiedelungen bilden sich noch zwei bis drei weitere Abstufungen. (Fig. 12).

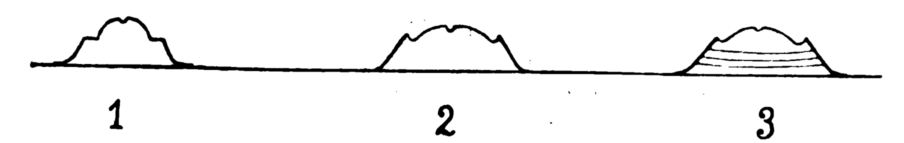



**Fig. 12.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.**

Typus 13.

Erster Beobachtungstag: Die Kolonie besitzt die Form einer recht gut entwickelten abgeflachten Kuppe mit zentraler kraterförmiger Vertiefung und zeigt keinen Randsaum. Die matte Oberfläche der Randpartien geht allmählich in die rauhe der oberen abgeflachten Anteile über. Die Kolonie ist ziemlich opak. Mäßig große, ziemlich stark irisierende Granula vereinigen sich zu ineinander eingeschachtelten Figuren, die bis zum Zentrum reichen.

Zweiter Beobachtungstag: Die Kolonie hat sich nur wenig verändert, wobei als neue Erscheinung anzuführen wäre, daß die zentrale Vertiefung sich zu einer dellenartigen, von scharfen Rändern umgebenen Einsenkung ausgebildet hat. Die Oberfläche ist glatt und glänzend, die



Kolonie ist opaker als am Vortage. Die rhombusartige Lagerung der Granula ist nur in den peripheren Partien mehr zu sehen, zentral aber läßt sich eine recht starke Verdichtung der Granula mit einer leicht gelblichen Verfärbung wahrnehmen.

Dritter Beobachtungstag: Die oberen Partien der Kuppe unterliegen einer schleimigen Umwandlung, welche bei dicht gedrängt stehenden Ansiedelungen so intensiv ist, daß die zentrale Delle der Kolonien von der Schleimmasse schon jetzt gedeckt wird. Bei gut isolierten Kolonien kann man verfolgen, wie die schleimigen Massen sich gegen die zentrale Einsenkung herandrängen und endlich diese überlagern, weshalb im durchfallenden Lichte eine Trübung als zentraler Fleck sichtbar ist, welcher der ursprünglichen Delle entspricht. (Diese Erscheinung erinnert gewissermaßen an die Verhältnisse bei der schleimigen Umwandlung einer Paratyphus B-Kolonie. (4) Während die oberen Teile der Kolonie von den schleimigen, völlig glatten und glänzenden Massen überdeckt sind, findet zu dieser Zeit in den unteren Randpartien der Ansiedelung noch keine schleimige Umwandlung statt. Die Kolonie ist somit einer recht flachen Kuppe mit matter Oberfläche ähnlich, auf welche ein gut gewölbtes, schleimiges und strukturloses feuchtglänzendes Kugelsegment aufgesetzt ist. Demgemäß lassen sich auch im durchfallenden Licht zwei Schichten scharf unterscheiden, und zwar eine äußere, nicht schleimige, bläulich verfärbte, mit ziemlich deutlicher Granulierung und eine zentrale Schicht, die den schleimig veränderten Teilen entspricht und recht opak und stark milchig getrübt ist.

In den folgenden Tagen nehmen auch die unteren Randpartien der Kuppe einen schleimigen Charakter an, so daß am 5. Beobachtungstage nur noch ein recht schmaler unveränderter Streifen dicht an der Basis der Kolonie sichtbar ist. Eine 7 bis 8 Tage alte Kolonie stellt sich als ein recht glatter, glänzender, opaker und schleimiger Tropfen dar. (Fig. 13.)

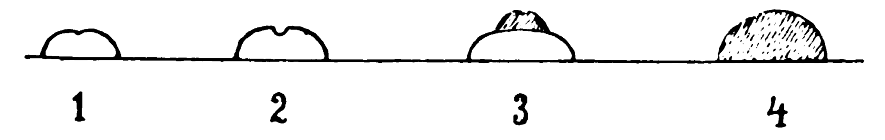



**Fig. 13.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter, 4 siebenter bis achter Beobachtungstag.**

## Typus 14.

Erster Beobachtungstag: Die Kolonie gleicht einem Kuppenstutz mit einem aufgesetzten recht flachen Kegel, der in der Mitte eine winzige zentrale Vertiefung besitzt und von den peripheren Anteilen der Stutz-



fläche durch einen seichten, ringförmig verlaufenden Graben begrenzt ist. Die Kolonie besitzt keinen Randsaum und ist ziemlich durchsichtig. Die Oberfläche des Kuppenstutzes ist matt, die des aufgesetzten Kegels rauh. Der Granulierung nach lassen sich im durchfallenden Lichte zwei Schichten voneinander unterscheiden; eine periphere aus mäßig großen, ziemlich stark irisierenden, in eingeschachtelten Rhombusfiguren angeordneten Granulis bestehende und eine zentrale, deren Granula in karierter und recht dichter Anordnung stehen. Diese beiden Schichten sind nicht scharf voneinander getrennt.

Zweiter Beobachtungstag: Der aufgesetzte Kegel ist stark abgeflacht, die zentrale Vertiefung deutlicher, der ringförmige Graben breiter und tiefer. Die Oberfläche des aufgesetzten Kegels ist feinlöcherig. Die Durchsichtigkeit hat ziemlich stark abgenommen, die Granulierung ist peripherwärts unverändert, zentral etwas dichter.

Dritter Beobachtungstag: Der Kuppenstutz hat durch unregelmäßiges Wuchern der Randpartien die Form eines Kegelstutzes angenommen, der aufgesetzte Kegel ist noch flacher als am Vortage. Die Oberfläche des Kegelstutzes ist rauh und leicht gefurcht, die des aufgesetzten Kegels fast glatt und glänzend. Die Kolonie ist recht opak und zeigt im schräg einfallenden Lichte eine leichte Trübung. Die Granulierung hat sich auch im peripheren Anteile der Ansiedelung stark verdichtet, die Figuren sind jedoch noch wahrnehmbar.

Vom vierten Beobachtungstage angefangen, beginnt sich in den oberen Randpartien des Kegelstutzes, und zwar unmittelbar in der Nähe des ringförmigen Grabens, ein Schleim zu bilden. Es ist charakteristisch, daß derselbe sich zuerst in der nicht völlig freiliegenden Randpartie der Kolonie — wie bei einer Paratyphus B-Ansiedelung — bildet, sondern in jenen Anteilen, die unmittelbar an die Nachbarkolonien grenzen, also vor allem bei den gedrängt auf der Platte stehenden Kolonien. Bei gut isolierten Kolonien ist das Phänomen der Schleimbildung zu dieser Zeit noch nicht sichtbar; sie sind völlig schleimlos, und erst ein bis zwei Tage später beginnt an der erwähnten Stelle die schleimige Umwandlung. Als weiterer Unterschied von einer Paratyphus B-Kolonie wäre noch hervorzuheben, daß, während bei der letzteren die Schleimproduktion dicht an der Basis der Ansiedelung beginnt und sich dort in der Form eines Ringwalles anlegt, bei diesen Kolonien die schleimige Umwandlung zuerst in den oberen Randpartien auftritt und erst später an die basalen Teile übergreift. Schließlich ist zu bemerken, daß der Schleimwall hier eine homogene Masse darstellt, bei der Paratyphus B-Kolonie hingegen fein radiär gestreift ist. Der Schleim setzt sich immer mehr gegen die Basis der Kolonie an, und



am 6. bis 7. Tage sind die Randpartien des Kegelstutzes völlig mit Schleim überdeckt. Der ringförmige Graben ist nur spurenweise mehr vorhanden, der aufgesetzte Kegel bleibt unverändert und wird nur opaker und das zentrale Loch kleiner und seichter. Auch der opake aufgesetzte Kegel bildet einen markanten Unterschied im Vergleich zur Paratyphus B-Kolonie. Zugleich mit der schleimigen Umwandlung der Randpartien des Kegelstutzes beginnen sich auf der glatten Oberfläche des soeben erwähnten aufgesetzten Kegels recht glatte, stark opake und porzellanglänzende Knöpfe zu bilden, an Zahl meist 3 bis 4, die nebeneinander und getrennt liegen. Bei etwa 10 Tage alten Kolonien besitzen diese Knöpfe die Größe eines Stecknadelkopfes und sind makroskopisch recht gut sichtbar. Der aufgesetzte Kegel mit den Knöpfen wird durch die Schleimmassen nie überdeckt, was bei mehrmals wiederholten Untersuchungen auch bei bis 3 Wochen alten Kolonien konstant blieb. Wir haben von diesen Knöpfen unter größter Vorsicht Abimpfungen auf Drigalskiplatten gemacht und gewannen Kulturen, die Milchzucker stark spalteten, welche Eigenschaft auch nach 15 direkten Passagen auf Drigalskiplatten, sowie nach 15 Passagen in niedriger Bouillonschicht stets konstant geblieben ist. Es ist noch zu bemerken, daß diese Knöpfe bei weiterem Verimpfen auf Drigalskiplatten eine stets konstante, aber vom Typus der primären Kolonie stark abweichende Form aufwiesen, jedoch auch die Fähigkeit, Schleim zu bilden, besaßen. (Fig. 14.)

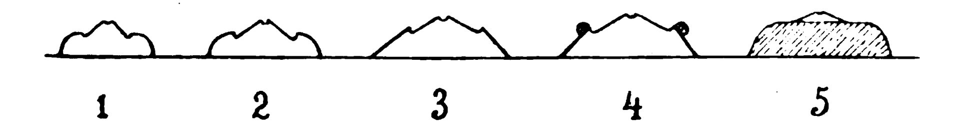



**Fig. 14.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter, 4 vierter, 5 sechster bis siebenter Beobachtungstag.**

### Typus 15.

Erster Beobachtungstag: Die Form der Kolonie entspricht einer gut entwickelten Kuppe mit einem aufgelagerten Kegel, der in die oberen Partien der Kuppe leicht versenkt ist und von derselben durch einen seichten, ringförmigen Graben getrennt ist. Bei gut ausgebildeten Kolonien besitzt der Kegel schon jetzt eine Andeutung einer zentralen Vertiefung. Ein Randsaum ist nicht vorhanden. Die Oberfläche ist matt und feuchtglänzend, die in den peripheren Anteilen ziemlich starke Durchsichtigkeit nimmt gegen das Zentrum stets ab. Die Granulierung ist nur dicht an der Peripherie sichtbar, wo sich die kleinen Granula zu konzentrisch ver-



laufenden Ringen lagern. In den zentralen Partien ist die Granulierung, so dicht, daß dieser Anteil im durchfallenden Lichte als eine strukturlose Masse erscheint. Die Form der Kolonie erinnert in groben Umrissen an eine Paratyphus A-Kolonie (4), jedoch bei genauerer Betrachtung ergeben sich bedeutende Unterschiede, welche eine Verwechselung dieser beiden Typen ausschließen. Die Differenz liegt vor allem in der Beschaffenheit der Oberfläche, Durchsichtigkeit und der Granulierung.

Zweiter Beobachtungstag: Die Kuppe ist steiler als am Vortage durch kräftigeres Wuchern der oberen Anteile ist von dem aufgelagerten Kegel nur eine konusartige Erhebung geblieben, die in der Mitte eine feine, lochartige, scharfbegrenzte Vertiefung besitzt. Der ringförmige Graben ist völlig verschwunden. Die Oberfläche der Randpartien ist unverändert, die der oberen, konusartig erhobenen Anteile leicht löcherig. Die Durchsichtigkeit hat besonders zentral stark abgenommen, die Granulierung ist auch in den peripheren Partien stark verdichtet, so daß die konzentrische Anordnung der Granula nur mehr spurenweise wahrnehmbar ist.

Dritter Beobachtungstag: Die zentrale konusartige Erhebung ist fast völlig verschwunden, das Loch bleibt aber erhalten. Im Bereiche der Randpartien hat sich eine grabenförmige Etage gebildet. Von der Basis aufwärts läßt sich eine feine radiäre Streifung der unteren Randpartien wahrnehmen, welche bis zur erwähnten Etage, d. i. etwa ein Drittel der Höhe der Randpartien, reicht. Die Oberfläche der unteren Randpartien ist rauh und leicht gefurcht; oberhalb der Etage ist sie ziemlich glatt und glänzend. Die Kolonie ist fast völlig opak und grünlichgelb verfärbt.

In den folgenden Tagen bilden sich von der ersten Etage aufwärts bis gegen die zentrale Vertiefung leicht ausgebildete, konzentrisch verlaufende Etagen. Die erwähnte grünlichgelbe Verfärbung der Kolonie ist recht stark und schon makroskopisch sichtbar. (Fig. 15.)

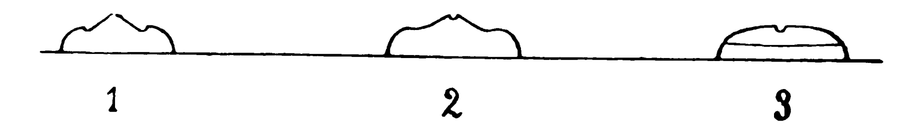



**Fig. 15.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.**

Typus 16.

Erster Beobachtungstag: Die Kolonie besitzt die Form einer recht steilen, gut ausgebildeten Kuppe mit einer aufgesetzten recht flachen, etwas zugespitzten Kuppe, die von ersterer durch einen seichten, ring-



förmig verlaufenden Graben begrenzt ist. Eine zentrale Vertiefung wie auch ein Randsaum fehlen. Die Oberfläche ist matt, die Durchsichtigkeit ganz gering; im schräg einfallenden Licht ist eine leichte, grauweiße Trübung bemerkbar. Mittelgroße Granula ordnen sich in dem peripheren Abschnitte der Kolonie zu quadratartigen, ineinander eingeschachtelten Figuren, die aber nur hie und da deutlich sichtbar sind; die zentrale Partie besteht aus balkenartig angeordneten und unregelmäßig verteilten Granulis; die Granula überhaupt irisieren recht stark, zentral läßt sich außerdem noch ein rotvioletter Schimmer wahrnehmen.

Zweiter Beobachtungstag: Durch kräftigeres Wuchern der Randpartien der Kolonie ist die untere Kuppe in ihren seitlichen Anteilen höher geworden und erreicht ungefähr die Höhe des Gipfels der aufgesetzten Kuppe; der ringförmige Graben ist breiter und tiefer. Die Oberfläche ist fast unverändert, die Kolonie ist recht opak und ziemlich stark getrübt. Die Granulierung hat sich etwas verdichtet und ist jetzt nur in den peripheren Teilen deutlicher erkennbar. Der zentrale rotviolette Schimmer tritt stärker hervor.

Dritter Beobachtungstag: Die Grenze zwischen der Grund- und der aufgesetzten Kuppe ist verstrichen. An der Stelle des ringförmigen Grabens ist nur eine ganz seichte Einschnürung vorhanden. Die Oberfläche ist völlig glatt und glänzend, die Kolonie ist noch opaker und grauweiß stärker getrübt. Die Granulierung hat sich gleichmäßig verdichtet. Der Form nach zeigt die Kolonie in den folgenden Tagen keine nennenswerten Veränderungen. Sie ist recht opak und besitzt eine sehr dichte Granulierung. Vom 4. Tage angefangen, entsteht in den zentralen Anteilen der aufgesetzten Kuppe ein stecknadelkopfgroßer, kreisrunder und scharf konturierter grauweißer Fleck, an dessen Stelle sich in den nächsten Tagen ein Knopf bildet. Jede Kolonie hat nur einen Knopf, welcher morphologisch wie auch biologisch sich vollkommen so verhält, wie die Bakterien der bei Typus 14 beschriebenen Knöpfe. (Fig. 16.)

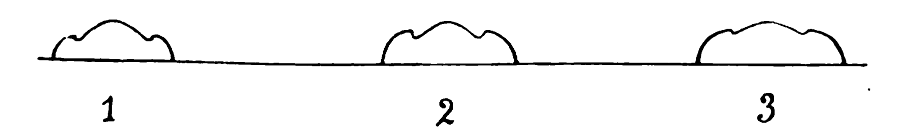



**Fig. 16.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.**





### Typus 17.

Erster Beobachtungstag: Die Kolonie besitzt die Form einer abgeflachten Kuppe, die im Zentrum eine gut sichtbare Vertiefung besitzt. Der deutlich entwickelte, radiär gefaltete und gezähnte Randsaum geht bogenförmig auf die Randpartien der Kuppe über, wobei einzelne Falten fast bis zur Hälfte der Höhe der Randpartien reichen. Die Oberfläche ist rauh, die an der Peripherie ziemlich starke Durchsichtigkeit nimmt gegen das Zentrum stets ab. Mäßig große, gleichmäßig verteilte und stark irisierende Granula stehen in ziemlich dichter karierter Anordnung.

Zweiter Beobachtungstag: Die Kolonie hat sich zu einem Kuppenstutz entwickelt, das zentrale Loch ist tiefer und von den umgebenden Partien der Stutzfläche schärfer begrenzt. Durch das kräftige Wuchern der Randpartien ist der Randsaum stark verschmälert und tritt kaum zum Vorschein. Die Oberfläche der Randpartien ist rauh, die der Stutzfläche rauh und leicht löcherig. Die Durchsichtigkeit hat etwas abgenommen, die Granulierung ist nur insofern verändert, als die karierte Anordnung der Granula gegen das Zentrum sich verdichtet.

Dritter Beobachtungstag: Der Kuppenstutz ist breiter und flacher, der Randsaum völlig überdeckt. Im Bereiche der Randpartien sind bei isoliert stehenden und gut entwickelten Kolonien zwei ringförmig verlaufende Etagen ausgebildet. Bei mehr gedrängten Kolonien sieht man jetzt nur eine Andeutung derselben; die Ausbildung der Etagen kommt erst bei solchen Ansiedelungen am 4. bzw. 5. Tage zur Entwicklung. Die Oberfläche der Randpartien ist rauh und etwas runzelig, die der Stutzfläche fast glatt. Durch eine scharfe Kante, die sich an der Grenze der oberen Randpartien und der Stutzfläche befindet, ist eine Differenzierung dieser beiden Oberflächenbeschaffenheiten leicht durchführbar. Die Kolonie ist opak und grauweiß verfärbt, die Granulierung ziemlich dicht.

In den folgenden Tagen werden weitere Etagen ausgebildet, sonst ist die Form der Kolonie nur minimal verändert. (Fig. 17.)

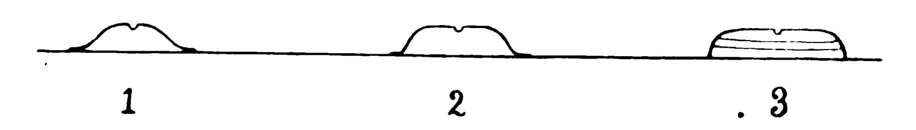



**Fig. 17.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.**

## Typus 18.

Erster Beobachtungstag: Die Kolonie besitzt die Form eines Kegelstutzes ohne Randsaum, dessen Stutzfläche in der Mitte eine mehr oberflächlich ausgestanzte lochartige Vertiefung besitzt. Die Oberfläche der Randpartien ist matt, die der Stutzfläche matt und leicht löcherig. Die Kolonie ist ziemlich durchsichtig. Mäßig große Granula lagern sich in der peripheren Partie zu rhombusartigen Figuren, die sich gegen das Zentrum stets verdichten und unter Bildung eines gelblichen Fleckes schließlich verschwinden.

Zweiter Beobachtungstag: Der Kegelstutz ist flacher, das zentrale Loch deutlicher. Die matte Oberfläche der Randpartien ist durch eine Kante, die zwischen den oberen Randpartien und der Stutzfläche sich befindet, von der glatten der letzteren scharf differenzierbar. Die Durchsichtigkeit hat nur wenig abgenommen, die Granulierung ist unverändert geblieben.

Dritter Beobachtungstag: Der Kegelstutz ist noch flacher als am Vortage. Etwa in der Hälfte der Höhe der Randpartien ist eine Abstufung zur Ausbildung gekommen. Die Oberfläche der Randpartien ist unverändert, die der Stutzfläche leicht löcherig. Jene Anteile, welche der Stutzfläche entsprechen, sind ziemlich opak und leicht grauweiß verfärbt. Die Granulierung hat sich stark verdichtet; im durchfallenden Licht ist zentral ein unregelmäßig begrenzter gelblicher Fleck sichtbar.

In den folgenden Tagen bilden sich weitere dicht aneinander liegende und konzentrisch angeordnete Abstufungen. Sonst sind keine wesentlichen Veränderungen zu verzeichnen. (Fig. 18.)

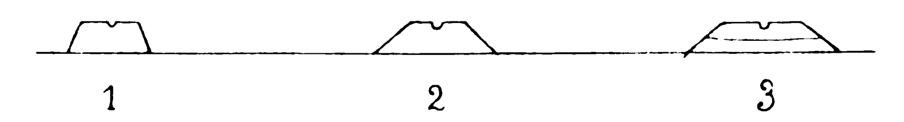



**Fig. 18.**
**Schematische Darstellung.**
**1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.**

Wie sich nun aus der Beschreibung der gefundenen Kolonietypen ergibt, lassen sich einzelne derselben wohl voneinander unterscheiden und erweisen sich als recht charakterisiert. Es ist interessant, daß wir eine Reihe von Stämmen gefunden haben, die denselben Kolonietypus besitzen, jedoch, in ihrem biologischen und agglutinatorischen Verhalten oft bedeutende Abweichungen voneinander zeigen, so z. B. der Kolonietypus 1 mit den

biologischen Gruppen I, II, III und V, dann der Kolonietypus 6 mit den biologischen Gruppen XI und einem Stamm der Gruppe VII, dann der Kolonietypus 7 mit den biologischen Gruppen VIII und 2 Stämmen der Gruppe VII, ferner der Kolonietypus 12 mit den biologischen Gruppen XIV, XV, XVIII und XIX, endlich der Kolonietypus 15 mit den biologischen Gruppen XX, XXI, XXII.

Es kommt nicht vor, daß ein Stamm einer biologischen Hauptgruppe (s. o.) mit einem Stamm einer anderen Hauptgruppe den gleichen Kolonietypus besitzt. Eine derartige Identität der Kolonietypen läßt sich nur bei einzelnen Stämmen verschiedener Gruppen innerhalb einer biologischen Hauptgruppe bemerken. Wohl aber können einzelne Stämme derselben biologischen Gruppe differente Kolonietypen bilden.

Es fragt sich nun, welches der drei Charakteristika (Agglutination, biologisches Verhalten, Kolonietypus) man für die Identifizierung einer Bakterienspezies als das wichtigste bezeichnen soll.

Im allgemeinen kann wohl der Satz gelten, daß wir in der Agglutinationsreaktion das empfindlichste Differenzierungsmittel für Bakterien besitzen. Es ist fraglos, daß hier gewisse Ausnahmen bestehen. Wir verweisen hier u. a. nur auf die Untersuchungen von Trawiński (5) bei den Angehörigen der engen Paratyphus B-Gruppe, die sich agglutinatorisch voneinander nicht trennen lassen, obwohl andere später zu erwähnende, deutliche Differenzen bestehen.

Die Prüfung des biologischen Verhaltens basiert auf sehr empfindlichen Eigenschaften der Bakterien und unterliegt daher viel leichter Schwankungen, deren Ursachen noch einer Erklärung bedürfen. In erster Linie muß in Betracht gezogen werden, daß man diese Eigenschaften unter künstlichen Verhältnissen mehr weniger schematisch prüft, insofern, als man die Bakterien durch das Kulturverfahren aus ihrem ursprünglichen Aufenthaltsmedium, in dem sie uns völlig unbekannten, sicherlich sehr schwankenden chemischen Prozessen ausgesetzt waren, entfernt und jetzt in ein relativ sehr konstantes Medium bringt und weiter züchtet, wodurch die ersterhaltenen Merkmale auch weiterhin konstant bleiben können. Die Studien über Mutation bei Bakterien haben jedoch gelehrt, daß einzelne Stämme aus sich selbst wieder Formen zu bilden vermögen, die in biologischer Hinsicht sich different verhalten, in agglutinatorischer Hinsicht jedoch mit dem ursprünglichen Stamm übereinstimmen. Solche Beobachtungen haben auch wir mit den Stämmen 23 und 66 machen können. Wenn nun solche plötzliche Umbildungen, die weiterhin wieder konstant bleiben, auf den künstlichen Nährböden zu beobachten sind, so ist dies entweder darauf zurückzuführen, daß innerhalb des künstlichen Nährmediums chemische

Umsetzungen stattgefunden haben, die zwar so gering, daß sie unserer Beobachtung entgehen, immerhin aber intensiv genug sind, um eine plötzliche Änderung der biologischen Eigenschaften des Bakteriums hervorzurufen. Oder aber, was das Wahrscheinlichere ist, liegt die Ursache dieser Erscheinung darin, daß die betreffende Bakterienspezies, solange sie sich innerhalb des natürlichen Mediums befand, die jetzt plötzlich auf den künstlichen Nährböden gewonnenen biologischen Eigenschaften schon besaß und nur durch die geänderten Verhältnisse vorübergehend verloren hatte. Diese Erwägungen zeigen eben, daß aus der Gleichheit oder Differenz einzelner biologischer Eigenschaften nicht zu weitgehende Schlüsse auf die Identität oder Verschiedenheit einzelner Bakterienstämme gezogen werden dürfen, weil eben dieses Differenzierungsmittel ein allzu empfindliches sein kann.

Der Kolonietypus gibt, wie die bisherigen Untersuchungen zeigten, ein gutes Differenzierungsmittel der einzelnen Bakterienspezies, das unter Umständen höher einzuschätzen ist als das agglutinatorische und biologische Verhalten, wie aus den Untersuchungen von Trawiński (5) über die enge Paratyphus B-Gruppe hervorgeht. Man kann zwar sagen, daß der Kolonietypus, so fein uns auch die Unterschiede desselben erscheinen, im allgemeinen biologischen Sinne nur ein grobes Differenzierungsmittel vorstellt. Wenn trotzdem, wie im angeführten Falle, gerade dieses Mittel das einzige ist, um nahe verwandte Bakterienspezies zu unterscheiden, so läßt sich dafür allerdings schwer eine stichhaltige Erklärung finden. Vielleicht handelt es sich hier um eine besonders ausgeprägte Konstanz der Teilungsverhältnisse der Bakterien, mit denen anscheinend der Kolonietypus in einem Zusammenhang steht.

## 6. Das Tierexperiment.

Vor allem soll bemerkt werden, daß der Wert des Tierexperimentes für die besondere Beurteilung der Pathogenität der Stämme ein recht problematischer ist, da aus dem Ausfall der Versuche keine weitgehenden Schlüsse gezogen werden können.

Anläßlich früherer Untersuchungen haben wir mit Fütterungsversuchen an weißen Mäusen schlechte Erfahrungen gemacht und beschränkten uns daher jetzt nur auf die subkutane Impfung, welche mit 0·5 ccm einer 24 Stunden alten Bouillonkultur der verschiedenen Stämme in der Sakralgegend der Maus vorgenommen wurde. Diese Mäuse wurden weiter beobachtet, und wenn sie nach 10 Tagen keine krankhaften Erscheinungen zeigten, einer neuerlichen Injektion mit derselben Dosis unterzogen, sodann

nach weiterer 10tägiger Beobachtung getötet. Mäuse, die auf die Injektion hin starben, wurden ebenso wie die getöteten seziert und einer bakteriologischen Untersuchung unterzogen.

Insgesamt wurden 38 Pferdestämme in der Weise auf die Pathogenität geprüft, wobei Vertreter von allen XXV biologischen Gruppen genommen wurden.

Der Ausfall der Versuche ergab, daß die Stämme 29, 67, 68 und 77 für weiße Mäuse sich als besonders pathogen erwiesen, indem die angegebene Dosis nach 20 bis 24 Stunden zum Tod der Tiere führte. Eine geringere Pathogenität wies der Stamm 58 auf, nach dessen Injektion die Mäuse erst nach 45 Stunden eingingen. Die Stämme 5 und 51 riefen bei den injizierten Tieren wohl keine sichtbaren Krankheitssymptome hervor, scheinen aber dennoch eine Infektion des Organismus hervorgerufen zu haben, denn die bakteriologische Untersuchung der inneren Organe nach Tötung der Tiere ergab, daß bei der mit Stamm 5 injizierten Maus aus dem Herzblut eine Kolonie, aus der Milz und Galle ziemlich reichliche und vom Duodenum und Coecum recht spärliche spezifische Ansiedlungen auf den Strichplatten angegangen waren. Dasselbe gilt auch für die mit Stamm 51 geimpfte Maus, nur mit dem Unterschiede, daß das Herzblut sich hier steril erwies. Wir haben nun mit diesen aus dem Mäusekörper gewonnenen Stämmen neuerlich Mäuse injiziert und konnten nun eine erhebliche Virulenzsteigerung feststellen, da die geimpften Mäuse jetzt schon nach 24 bis 28 Stunden eingingen.

Bei den wirksam infizierten Mäusen konnten wir schon einige Stunden nach der Impfung Mattigkeit, verminderte Freßlust und Apathie feststellen. Diesen Symptomen haben sich später eine inspiratorische Dyspnoe und tonische Krämpfe angeschlossen.

Der Obduktionsbefund der an der Infektion zugrunde gegangenen Mäuse ergab: leichte Hyperämie der serösen Häute, mäßiger Milztumor, parenchymatöse Degeneration der Nieren, Leber und des Herzmuskels. In zwei Fällen war auch ein akuter Dünndarmkatarrh vorhanden.

Die bakteriologische Untersuchung der inneren Organe ergab in sämtlichen Fällen Reinkulturen der injizierten Bakterienart aus dem Herzblut, Galle und Milz, in einigen Fällen auch aus Duodenum und Dünndarm, in einem Falle auch aus der Harnblase.

Alle hier nicht angeführten 31 Stämme, mit denen Tierversuche angestellt wurden, erwiesen sich als nicht pathogen für diese Art der Versuchstiere.

Bemerkenswert ist, daß von sämtlichen auf Pathogenität geprüften Pferdestämmen nur ein einziger der ersten biologischen Hauptgruppe



(s.o.) sich für Mäuse infektiös erwies, obwohl diese Gruppe biologisch dem für Mäuse so pathogenen Paratyphus B am nächsten steht.

Anläßlich der Immunisierung der Kaninchen konnten wir uns auch überzeugen, daß Stämme dieser Hauptgruppe weniger giftig sich erwiesen, als Stämme der anderen Hauptgruppen. Während von den ersteren Stämmen die zur Immunisierung verwendeten Aufschwemmungen nur durch 20 Minuten bei 60° gehalten werden mußten, um nicht auf die Tiere schädlich zu wirken, war es notwendig, bei den anderen Stämmen anfänglich die Aufschwemmungen etwa 40 Minuten bei dieser Temperatur zu halten.

## Zusammenfassung.

1. Aus 1000 Pferdemistproben wurden 77 Stämme (7·7 Prozent) gezüchtet, die auf den gebräuchlichen Nährböden sich wie Paratyphus B oder Paratyphus B-ähnliche Stäbchen verhalten haben, bei genauerem Studium aber sich in keinem nahen verwandtschaftlichen Verhältnisse mit diesen Formen stehend erwiesen. Es liegt also bisher kein Anhaltspunkt vor, daß der Paratyphus durch Pferdemist Verbreitung finden kann.

2. Die gewonnenen Stämme lassen sich nach ihrem biologischen Verhalten in XXV Gruppen einreihen.

3. Die Vertreter jeder Gruppe geben ein hochagglutinierendes Kaninchen-Immunserum, mit dem bald nähere, bald weitere Verwandtschaften zwischen einzelnen Stämmen festgestellt werden konnten. Kein Immunserum vermag jedoch auch in der niedrigsten Verdünnung die Angehörigen der Paratyphus B-Gruppe, wie auch den Bac. enteritidis Gaertner, Paratyphus A, Coli commune und Coli mutabile agglutinatorisch zu beeinflussen. Umgekehrt flocken Immunsera mit den letztgenannten Bakterienspezies (ausgenommen das Coli mutabile, von dem kein agglutinierendes Serum zu gewinnen war) die aus Pferdemist gezüchteten Stämme entweder gar nicht oder nur in sehr geringen Verdünnungen aus.

4. Stämme verwandter Gruppen besitzen denselben Kolonietypus. Insgesamt ließen sich die 77 gezüchteten Stämme in 18 Typen von Kolonien einteilen. Die gefundenen Kolonietypen haben keine Ähnlichkeiten mit den Kolonieformen der oben angeführten 4 u. 5 und anderer nach dieser Methode beschriebener Angehöriger der Typhus-Coli-Gruppe.

5. Ob diese Stämme auch für Tiere und Menschen als unter gewissen Verhältnissen mutierte Formen nicht pathogen sein können, bleibt dahingestellt.





## Literaturverzeichnis.

1. Huber, Die Paratyphus B-ähnlichen Bakterien des Pferdedarmes. *Zentralblatt f. Bakteriologie.* 1910. Orig.-Bd. LVI.

2. Morgan, Some observations upon the microorganismus of meat poisoning and their allies. *Zentralblatt f. Bakteriologie.* 1906. Bd. XXXVIII. I. Abt. Ref.

3. Titze und Weichel, Die Ätiologie der Kälberruhr. Berlin. *Tierärztl. Wochschr.* 1908. Nr. 26.

4. Felsenreich und Trawiński, Über die Bedeutung des Kolonietypus für die Bestimmung und Differenzierung der Bakterienarten der Colityphusgruppe. *Österr. San.-Wesen.* 1916. Nr. 36/40.

5. Trawiński, Über das Vorkommen von Bakterien der Typhus-Coligruppe im Darminhalt gesunder Schweine, zugleich ein Beitrag zur Differenzierung der Bakterien der engen Paratyphus B-Gruppe. *Diese Zeitschrift.* 1916. Bd. LXXXIII.



[Aus dem Deutschen Rote Kreuz-Lazarett in Konstantinopel.]
(Chefarzt: Dr. Th. Zlocisti.)

# Über menschliche Erkrankungen durch Bazillen der Glässer-Voldagsengruppe in der Türkei.

Von

Dr. **Paul Neukirch**.[1]

(Hierzu Taf. III.)

## I. Klinischer Teil.

Offenbar die meisten Angehörigen der Typhus- und Paratyphusgruppe können, wenn sie in großen Mengen aufgenommen werden, toxische oder bakterielle Erkrankungen des Menschen unter dem Bilde der Nahrungsmittelvergiftung verursachen. Als menschenpathogen im engeren Sinne, d. h. als häufige Erreger von Mensch zu Mensch übertragbarer Allgemeininfektionen mit Invasion der Blutbahn sah man jedoch bisher nur das Bact. typhi, das Bact. paratyphi A und den menschenpathogenen Typus des Paratyphus B an. Aufgabe dieser Arbeit ist es, den Nachweis zu liefern, daß in Anatolien ein weiteres Mitglied der Typhus-Coli-Gruppe als Erreger schwerer Allgemeinerkrankungen offenbar weit verbreitet vorkommt. Es handelt sich um einen Bacillus, der dem bei Schweinepest gefundenen Bacillus Voldagsen und dem Bact. typhi suis Glässer nahesteht. Die Umstände, unter denen diese Bakterien gefunden wurden, sind folgende:

Als die Abordnung des Centralkomitees der Deutschen Vereine vom Roten Kreuz am 8. Februar 1915 in Erzindjan (Wilajet Erzerum) ein Lazarett eröffnete, fielen schon bald Kranke auf, die an schweren ruhrähnlichen Durchfällen mit oft septischen Temperatursteigerungen litten und die zum größten Teil zugrunde gingen (1). Bei einer Anzahl dieser Leute gelang der Nachweis eines mit Paratyphus B

[1] Das Manuskript ist der Redaktion eingeliefert am 3. V. 1917.



nicht identischen, ihm kulturell nahestehenden Mikroorganismus im Blute und in den Leichenorganen.

Die exakte wissenschaftliche Erforschung des Erregers war in Erzindjan aus vielen Gründen schwierig. Nach Konstantinopel zurückgekehrt eröffneten wir im Herbst 1915 ein Lazarett, das nach anfänglich chirurgischer Belegung im Frühjahr 1916 in ein Seuchenspital umgewandelt wurde. Bereits im Februar 1916 konnten wir einen erneuten Fall von Erkrankung durch denselben Bacillus feststellen. Seitdem ist die Kette derartiger Beobachtungen nicht mehr abgerissen. Im Juni 1915 schickte ich fünf Stämme, die untereinander und mit dem in Erzindjan gezüchteten identisch waren, in das Institut „Robert Koch“ und erhielt von dort durch Herrn Dr. Schiemann den Bescheid, daß alle fünf Stämme der Gruppe Glässer-Voldagsen der Fleischvergifter zuzuzählen seien. Auf meine Bitte erhielt ich von dort einen europäischen Glässerstamm und ein agglutinierendes Glässerserum, so daß wir in der Klärung der Frage Fortschritte machen konnten. Es steht jetzt fest, daß 25 Patienten in Erzindjan und 19 Patienten in Konstantinopel an Allgemeininfektion mit „Bac. Erzindjan“, wie ich den Erreger zunächst hier der Einfachheit halber nennen will, gelitten haben.

Im ganzen haben wir Bac. Erzindjan gezüchtet:

| | in Erzindjan | in Konstantinopel |
|---|---|---|
| aus Blut | 18mal | 20mal |
| aus Urin | 1 „ | 30 „ |
| aus Stuhl | 4 „ | 1 „ |
| aus Leichenorganen | 6 „ | 12 „ |
| im ganzen | 29mal | 63mal |
| | bei 25 Patienten | bei 19 Patienten. |

Die nähere Charakterisierung des Bacillus wird im bakteriologischen Teil gegeben werden; hier sei nur gesagt, daß er vom Paratyphus B ebensowenig kulturell unterscheidbar ist, wie etwa der Gärtnerbacillus, sich dagegen serologisch von jenem wie vom Paratyphus B scharf unterscheidet und nach dem Ausfall der Agglutination der Gruppe Glässer-Voldagsen angehört. An sich wäre die Beschreibung einer neuen Paratyphusvarietät nichts besonders Wichtiges. Ich trete daher, um die Notwendigkeit dieser Arbeit zu rechtfertigen, dem Beweis näher, daß wir es mit einem außerordentlich virulenten Erreger menschlicher Allgemeininfektionen zu tun haben, und stelle eine Anzahl meiner Fälle klinisch dar:

## A. Typhös-septische Fälle.

Fall 1. Gustav Z., 23 Jahre, (Fig. 1, Taf. III.)

kam am 2. XI. 16 aus Syrien und meldete sich am 4. XI. wegen eines vorübergehenden Fieberanfalls krank. Seit dem 16. XI. dauerndes Fieber. Am 19. XI. kam es zu Schwindelanfällen und Durchfällen, sowie Fieber bei allgemeinem Unbehagen und Appetitlosigkeit.

Befund am 21. XI.: Kräftig gebauter Mann in mittlerem Ernährungszustand. Konjunktiven nicht gerötet. Zunge weiß belegt, auch an den Rändern. Rachen o. B. Hautfarbe blaß. Lungen o. B. Herzgrenzen normal. Erster Herzton gespalten, unrein. Puls dikrot. Milz überragt Rippenbogen um zwei Querfinger. Lebergrenzen normal. Reflexe vorhanden, nicht gesteigert.

22. XI. Hüstelt. Leichte Schallverkürzung über dem linken Unterlappen. Unbestimmtes Atmen. Hautfarbe leicht gelblich, nicht eigentlich ikterisch. Lebergrenzen normal.

Am 20. XI. im Blute Tertianaringe nachgewiesen. Auf Chinin seitdem kein Fieberanfall.

23. XI. Sehr unruhig, versucht nachts aus dem Fenster zu gehen. Lungenbefund nicht verändert. Nirgends Bronchialatmen.

24. XI. Puls irregulär (Koffein, Kampfer, Digipurat). Patient ist benommen. Rechts über 9. bis 11. Rippe Reibegeräusche. Über dem linken Unterlappen mittelblasige Rasselgeräusche. Am Gesäß etwa 10 cm lange, 4 cm breite Druckstelle.

26. XI. Läßt unter sich, stark benommen, hustet viel. Beim Aufsitzen Schwindelgefühl. Rechts hinten unten Schallverkürzung bis zum unteren Schulterblattwinkel. Reiben und Knisterrasseln.

27. XI. Noch immer gelblicher Ton der Haut. Nirgends Roseolen; Lungenschall rechts hinten unten etwas aufgehellt. Entfaltungsrasseln. Psychisch leicht benommen.

28. XI. Sensorium deutlich aufgehellt; Zunge weniger stark belegt.

29. XI. Kopf auffallend gerötet; psychisch ziemlich klar. Weiß aber nicht, wie lange er krank ist, kann den Namen des Kaisers nicht sagen. Kann auch einfache Rechenaufgaben nicht lösen. Lungenbefund unverändert. Es besteht noch leichter Meteorismus. Zunge reinigt sich. Lungenbefund: Rechts vom unteren Schulterblattwinkel abwärts Schallverkürzung. Seitlich davon Atmen abgeschwächt, nach der Wirbelsäule zu eher verschärft. Rasseln daselbst krepitierend. Seitlich vom 8. Interkostalraum abwärts aufgehobenes Atemgeräusch. Milzdämpfung perkutorisch vergrößert. Milz eben palpabel, offenbar sehr weich.

30. XI. Psychisch vollkommen klar.

2. XII. Keine Dämpfung mehr nachweisbar. Vereinzelte trockene Geräusche über rechtem Unterlappen.

8. XII. Lunge o. B. Zunge nicht mehr belegt.

20. XII. Rekonvaleszenz ohne besondere Störung, noch sehr schwach.

31. I. Patient wird geheilt entlassen.

Während der Erkrankung blieb die Diazoreaktion stets negativ. Bis zum 25. XI. bestand beträchtliche Lebensgefahr. Die Stühle waren in den ersten Krankheitswochen erbssuppenartig, es bestand Meteorismus.

Die bakteriologischen Untersuchungen ergaben folgendes:

Blutaussaat am 22. XI. und 30. XI.: Bac. Erzindjan in Reinkultur.

Stuhlaussaat am 26. XI.: Bac. Erzindjan gefunden.

Steril entnommener Urin am 22. XI., 25. XI., 1. XII. und 6. XII. ergibt Wachstum von Bac. Erzindjan in Reinkultur.

Mit der Entfieberung hörte die Bazillenausscheidung im Urin auf.

Das Serum des Patienten agglutinierte Bac. Erzindjan und fast geradeso auch Bac. Glässer:

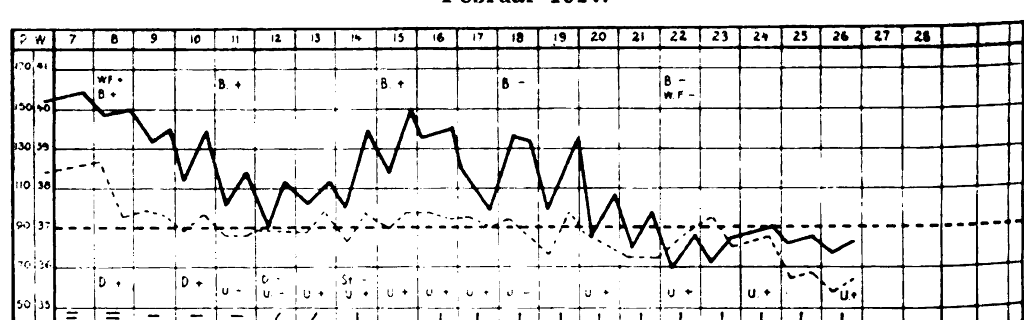
| | | |
|---|---|---|
| Am | 22. XI. 16 | 0 |
| ,, | 30. XI. 16 | 0 |
| ,, | 6. XII. 16 | 1 : 1600 |
| ,, | 19. XII. 16 | 1 : 3200 |
| ,, | 18. I. 17 | 1 : 12800 |
| ,, | 2. II. 17 | 1 : 1600 |

Tabelle VI gibt auch die Titerwerte des Serums für Typhus, Paratyphus A und B wieder.

Diagnose: Typhös-septische Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan. Komplizierende Bronchopneumonie.

Fall 2. Emin M., 32 Jahre.

**Februar 1917.**




Am 8. XII. völlig benommen eingeliefert. Gibt an, er sei seit mehreren Wochen krank.

Befund: Elender Allgemeinzustand. Kein Exanthem, aber fast am ganzen Körper starke Hautschuppung, am stärksten in den Weichen. Zunge dick belegt. Herz, Lungen o. B. Milz nicht palpabel.

10. II. Kein Exanthem. War nachts sehr unruhig.

12. II. Wegen der hochgradigen Benommenheit noch immer keine anamnestischen Angaben zu erhalten. Haut sehr trocken, noch immer von Schuppen bedeckt. Offenbar schweres Krankheitsgefühl. Konjunktiven nicht gerötet. Pupillenreaktion prompt. Zunge nicht belegt. Über den Lungen beiderseits unten feuchte und trockene Geräusche, keine Dämpfung, überall Vesikuläratmen. Herz o. B. Abdomen weich. Milz nicht palpabel.



Keine Roseolen. Reflexe vorhanden, nicht gesteigert. Geringe Knöchelödeme.

14. II. Deutlicher Ikterus.

15. II. Ikterus hat stark zugenommen. Benommenheit. Vertiefte Atmung. Gibt Kopf- und Gliederschmerzen an. Starke Hautschuppung.

19. II. Noch deutlicher Ikterus, besonders der Konjunktiven. Sensorium frei. Macht keinen schwerkranken Eindruck mehr.

22. II. Temperatur normal. Ikterus besteht noch fort. Im Urin Gallenfarbstoff nachzuweisen.

24. II. Im Urin kein Gallenfarbstoff mehr. Urobilinogen vermehrt. Sediment: Ziemlich zahlreiche Leukozyten. Hyaline Zylinder.

28. II. Im Urin hyaline Zylinder und Leukozyten. Eiweiß spurenweise.

5. III. Zustand bessert sich. Noch immer zahlreiche Leukozyten und hyaline Zylinder im Urin.

24. III. Urinbefund unverändert. Allgemeinbefinden sehr gut.

Die anfangs positive Weil-Felixsche Reaktion war von Beginn der Beobachtung an im Rückgang. Nach ihr zu schließen, ist Patient nach oder im letzten Stadium des Fleckfiebers eingeliefert worden.

Bakteriologische Befunde: 8. II., 11. II. und 15. II. würde im Blute Bac. Erzindjan gefunden.

Vom 13. II. an bis 27. III. alle 1 bis 2 Tage Bac. Erzindjan im Urin nachgewiesen. Im Stuhl wurden keine derartige Bazillen gefunden.

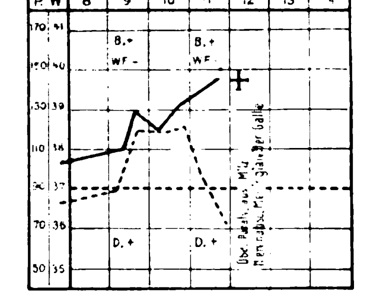
Das Serum des Patienten agglutinierte Bac. Erzindjan am 26. II. bis 1:12800. (Genaue Angaben siehe Tabelle VI.)

Diagnose: Typhös-septische Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan. Dauerausscheidung durch den Urin.

## Fall 3. Achmed O., 28 Jahre.

**Februar 1917.**

Wird in fast moribundem Zustand, mit fadenförmigem Puls, kühlen Extremitäten, eingefallenen Gesichtszügen eingeliefert. Völlig benommen. Kein Exanthem. Hautfarbe sehr blaß. Zunge sehr dick weißlich belegt, feucht.




11. II. Äußerst abgemagerter Zustand, vollkommene Kraftlosigkeit. Atmung 40. Stöhnt. Gesichtszüge leidend, läßt den Unterkiefer hängen. Spricht wie aus dem Traume. Sprache völlig unartikuliert, kaum verständlich. Planloses Herumgreifen der Hände.

Lungen: Rechts hinten unten und seitlich intensive Dämpfung, über deren oberem Teil sehr naheklingendes Vesikuläratmen, grobe Rasselgeräusche und Reiben hörbar sind. Über dem unteren Teil abgeschwächtes Atmen. Auch über den unteren Partien links ziemlich dichte Rasselgeräusche. Herz: Töne sehr leise, sonst o. B. Milz: überragt den Rippenbogen um zwei Querfinger, sehr hart. Abdomen o. B. Kein Exanthem.



Haut trocken und schuppig. Keine Durchfälle. An der linken Oberlippe und der Nase Schorfe (Herpes?).

Am 12. II. 17 $3^1/_2$ Uhr morgens Exitus.

Bakteriologische Befunde: Aus Blutaussaat vom 9. und 11. II. ist Bac. Erzindjan gewachsen.

Obduktion am 12. II. 17 $9^1/_2$ Uhr morgens (durch Verfasser).

Männliche Leiche in reduziertem Ernährungszustand. Kein Exanthem oder Reste eines solchen sichtbar. Zwerchfellstand rechts 4. Rippe, links 4. Interkostalraum. Bauch: Peritoneum spiegelnd. In der Bauchhöhle keine freie Flüssigkeit. Pleuren: beiderseits glatt. Pleurahöhlen vollkommen frei. Milz: stark vergrößert; harte Konsistenz, 19 : 13 : 6 cm. Auf dem Schnitt hart. Lunge: Linker Oberlappen nur an einer kleinen Stelle verwachsen. Überall lufthaltig. In den untersten Lungenpartien kleine Hypostasen. Rechte Lunge: Oberlappen und Mittellappen normal. Unterlappen von deutlich vermehrter Konsistenz, auf dem Schnitt leberartiges Aussehen (Hypostase). Herz: Von der Größe der Faust der Leiche, Farbe des Herzmuskels blaß. Klappenapparat zart. Aorta zart. Mesenterialdrüsen mäßig geschwollen. Im unteren Ileum auffallende Rötung der Schleimhaut mit kleinsten Blutaustritten. In der Gegend der Bauhinischen Klappe diffuse Rötung und Schwellung der Dünndarmschleimhaut. Sonst Darm in ganzer Ausdehnung unversehrt. Keine Geschwüre, keine Schwellung der Peyerschen Plaques. Linke Niere: Allgemein von etwas gelblicher Farbe. Oberfläche ebenso wie Rinde und Mark auf dem Schnitt besät mit bis zu hirsekorngroßen violetten Herden, in deren Mitte bei den größeren derselben eine zentrale gelbweißliche stecknadelkopfgroße Erweichung zu erkennen ist. Nierenbecken o. B. Rechte Niere: ebenso wie linke durchsetzt mit kleinen Herden. Leber: auf dem Schnitt von braungelblicher Farbe, normaler Konsistenz, keine makroskopisch sichtbaren Herde enthaltend. Harnblase: stark kontrahiert. Gehirn: Meningen mit stark getrübter Flüssigkeit gefüllt. Auch an der Hirnbasis trübe Flüssigkeit. Hirnsubstanz o. B.

Pathologisch-anatomische Diagnose: Hypostase beider Unterlappen. Multiple Nierenabszesse. Entzündliche Veränderung der Schleimhaut des unteren Ileums. Beginnende Meningitis purulenta.

Bakteriologischer Befund: Aus Milz, Lunge, Nierenabszessen, Meningealeiter wird Bac. Erzindjan gezüchtet. Im Inhalt verschiedener Darmschlingen wird er nicht gefunden.

Diagnose: Septische Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan. Eitrige Meningitis.

Treten wir in eine Betrachtung von Fall 1 bis 3 ein und prüfen wir, ob die Diagnose Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan zu Recht besteht:

Wie die Kurven 1 bis 3 zeigen, wurde Bac. Erzindjan gezüchtet bei Fall 1 aus dem Blute während der Fieberperiode zweimal, aus dem Urin viermal, aus dem Stuhl einmal. Bei Fall 2 wurde Bac. Erzindjan



gezüchtet aus dem Blute dreimal, aus Urin vom 13. II. bis 1. IV. dauernd in zweitägigem Intervall, dagegen nicht aus dem Stuhl. Bei Fall 3 wurde Bac. Erzindjan aus zwei Blutaussaten und aus allen bakteriologisch untersuchten Leichenorganen gezüchtet. Die Agglutinationstiter des Serums von Fall 1 und 2 gehen aus Tabelle VI und VII hervor. Das Serum von Achmed O. (Fall 3) agglutinierte den eigenen Stamm nicht; der Patient starb ersichtlich auf der Höhe der Erkrankung.

Differentialdiagnostisch kam bei Fall 1 und 3 ernstlich nichts anderes als eine Sepsis oder eine Krankheit der Typhusgruppe in Frage. Immerhin mußte die Diagnose Fleckfieber ausgeschlossen werden. Bei Fall 1 fehlten sämtliche Hauptsymptome des Fleckfiebers wie Exanthem, Conjunctivitis und positive Diazoreaktion. Durchfälle und Meteorismus sprachen sehr gegen Fleckfieber. Zudem hatte die Fieberkurve nichts von einer Fleckfieberkurve an sich. Schließlich war Fleckfieber im November 1916 in Konstantinopel ein sehr seltenes Vorkommnis. Die Weil-Felixsche Reaktion wurde bei Gustav Z. erst einen Monat nach Ablauf der Erkrankung geprüft, war dann völlig negativ.

Bei Fall 3 fehlte jede Spur von Exanthem, die Weil-Felixsche Reaktion war am 9. und 11. II. negativ, was bei einem an Fleckfieber sterbenden Menschen sicherlich seltene Befunde wären. Außerdem sind Nierenabszesse und Meningitis bei reinem Fleckfieber bisher nicht beobachtete Obduktionsbefunde. Bei Fall 1 und 3 war also die Diagnose Fleckfieber völlig auszuschließen.

Bei Fall 2, der als Fleckfieber eingeliefert wurde, war die Weil-Felixsche Reaktion anfänglich positiv, sank aber von Anfang an ab, während die Krankheitserscheinungen im Anstieg waren. Der Patient befand sich bei der Aufnahme im Stadium der stärksten Schuppung, während jede Spur eines frischen Exanthems fehlte. Der Patient hat somit mit Sicherheit an Fleckfieber gelitten, es ist auch nicht absolut von der Hand zu weisen, daß die Fieberperiode vom 7. bis 12. II. noch dem Fleckfieber angehörte (obwohl die Stärke der Schuppung und der Befund des Bac. Erzindjan im Blute am 8. II. nicht gerade dafür sprechen). Der zweite Temperaturanstieg am 14. II. kann jedoch mit Fleckfieber nichts mehr zu tun haben. Neben dem Wiederanstieg der Kurve sprach vor allem der nunmehr auftretende Ikterus vollkommen dagegen.

Es war demnach möglich, die einzige differentialdiagnostisch in Frage kommende Krankheit genügend auszuschließen.

Somit reichen, wie ich glaube, die Ergebnisse der bakteriologischen und serologischen Untersuchung aus, um in diesen Fällen die ätiologische

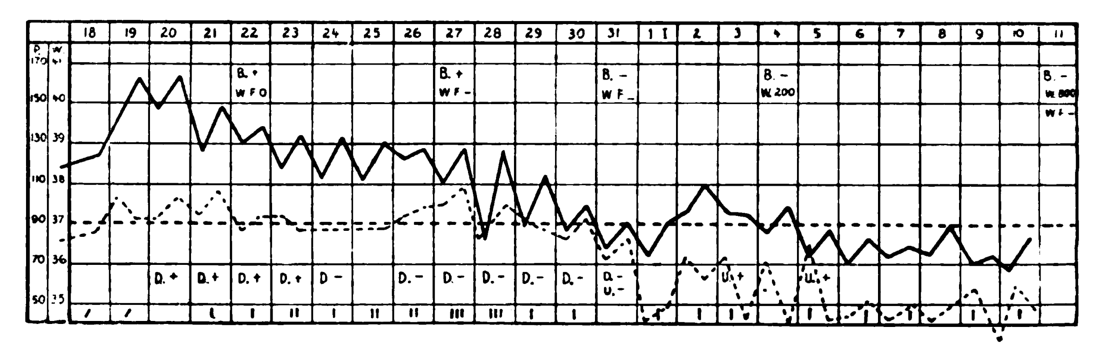


Bedeutung der bei allen drei Patienten vorliegenden Infektion mit Bac. Erzindjan sicherzustellen.

Eine Reihe von ähnlichen Fällen möge hier folgen:

Fall 4. Christo J., 46 Jahre.

**Dezember-Januar 1916/17.**




Vor der Einlieferung mindestens 4 Tage lang krank gewesen. Älterer, schwächlicher Mann. An Brust und Rücken vereinzelte roseolaähnliche Flecken. Konjunktiven nicht gerötet, Pupillen reagieren. Zunge wird zitternd vorgestreckt, stark belegt, feucht. Sensorium benommen, offenbar schweres Krankheitsgefühl; Allgemeinzustand erinnert lebhaft an Fleckfieber. Lungen: von der 3. Rippe vorn abwärts Dämpfung. Daselbst lautes Knarren. Über beiden Lungen diffuse trockene Rasselgeräusche. Herz o. B. Milz überragt Rippenbogen um vier Querfinger, sehr druckempfindlich. Leber überragt Rippenbogen um drei Querfinger. Reflexe vorhanden.

23. XII. Lungenbefund unverändert. Subjektiv sehr mitgenommen. Ruhig.

27. XII. Rechts hinten unten handbreite Dämpfung; hier feuchte kleinblasige Rasselgeräusche.

31. XII. Lungenbefund unverändert. Allgemeinzustand befriedigend.

5. I. Außer trockenen diffusen Rasselgeräuschen kein Lungenbefund mehr.

7. I. Klagt über Schwindelgefühl. Milz nicht mehr palpabel.

13. I. Noch leichte Bronchitis. Sonst gute Fortschritte.

Bakteriologische Befunde: Am 22. XII. 16 und 27. XII. aus dem Blut Bac. Erzindjan gezüchtet, am 3. und 5. XII. aus dem Urin.

Das Serum agglutinierte Bac. Erzindjan am 4. I. 1:200, am 7. I. 1:800. Die Weil-Felixsche Reaktion war stets 1:25 negativ (22 und 27. XII. 16 und 31. I. 17).

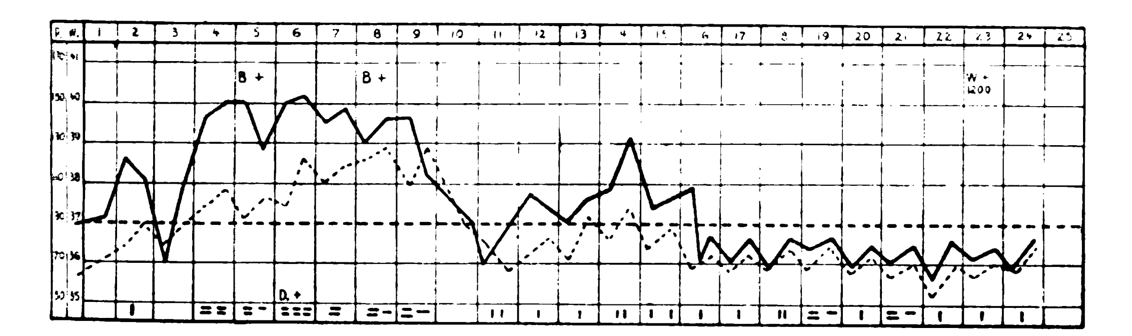
Klinische Diagnose: Typhös-septische Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan.

Fall 5. Sali A., 34 Jahre.

**März 1916.**

Angeblich seit einem Monat krank, will längere Zeit Fieber gehabt haben, dabei etwas Durchfall.

Aufnahmebefund am 2. III. 16: Über beiden Lungen trockene Geräusche. Herz perkutorisch und auskultatorisch o. B. Zunge feucht, stark belegt. Kein Exanthem. Aussehen blaß und hinfällig. Kein Ikterus. Milz und Leber nicht deutlich vergrößert. Reflexe vorhanden. Etwas Zahnfleischskorbut.




6. III. Patient ist jetzt schwer benommen, unruhig, drängt aus dem Bett. Zunge belegt wie bei Typhus abdominalis.

7. III. Zustand wie gestern. Keine Roseolen zu sehen. Milz jetzt deutlich palpabel, hart.

9. III. Schwer benommen. Reagiert kaum auf Anruf. Puls 130, fadenförmig. Andauernd erbsbreiartige Durchfälle.

10. III. Völlig verwirrt, phantasiert andauernd. Extremitäten kühl; Zustand sehr bedenklich.

11. III. Seit gestern ist Puls auf 80 herabgegangen, von besserer Qualität. Hustet mehr als früher.

14. III. Über den unteren Partien beider Lungen Krepitieren und trockene Geräusche. Keine deutliche Dämpfung, keine Durchfälle mehr.

1. IV. Weitere Rekonvaleszenz durch Lues II gestört.

Bakteriologische Befunde: Aus dem Blut wurde am 5. III. und 8. III. 17 Bac. Erzindjan gezüchtet. Am 23. III. agglutinierte das Serum Bac. Erzindjan 1 : 1200.

Diagnose: Typhös-septische Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan.

Fall 6. Abdullah F., 30 Jahre.

**März 1916.**

Bei der Aufnahme im Blute Rekurrensspirillen nachgewiesen.

Am 18. III. 16 0·5 Neosalvarsan. Am 18. III. Abfall der Temperatur zur Norm.

21. III. Die Temperatur ist wieder im Ansteigen. Zahnfleischskorbut.

23. III. Schwerer Allgemeinzustand. Hochgradige Benommenheit. Herz o. B. Lungen: etwas Bronchitis. Im Blut keine Spirillen mehr nachweisbar.

26. III. Der Zustand hat sich etwas gebessert.



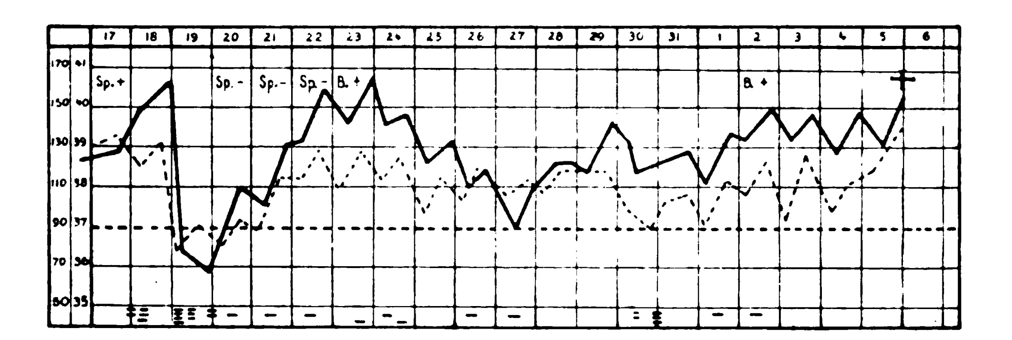


28. III. Erneuter Temperaturanstieg. Sehr elender Allgemeinzustand. Jetzt wieder völlig benommen. Abdomen aufgetrieben. Leber um drei Querfinger vergrößert. Lungen: trockene Rasselgeräusche.

3. IV. Schwer benommen. Grobschlägiger Nystagmus nach allen Richtungen. Kernig ++. Nackensteifigkeit. Kann die Zunge nicht vorstrecken. Konvulsionen.

Klinische Diagnose: Eitrige Meningitis.

6. III. morgens $7^1/_2$ Uhr Exitus.




Obduktion (durch Verfasser): Eitrige Meningitis der Konvexität. Derbe Milzschwellung. Im Darm Ulcera im unteren Ileum und Coecum. Schwellung der Mesenterialdrüsen.

Hypostatische Herde in beiden Unterlappen. Trübe Schwellung der Nieren.

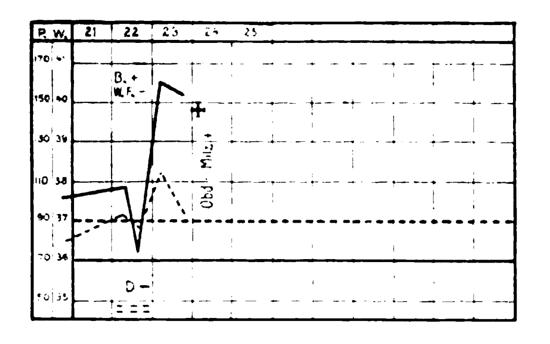
Bakteriologischer Befund: Bac. Erzindjan gezüchtet am 23. III. 16 und 2. IV. 16 aus dem Blute, am 6. IV. 16 aus Milz und Meningealeiter der Leiche.

Diagnose: Typhös-septische Allgemeininfektion und anschließende Meningitis purulenta durch Bac. Erzindjan.

## Fall 7. Mustafa M., 39 Jahre.

**Februar 1917.**

22. II. 17: gibt an, seit 8 Tagen krank zu sein. Sensorium fast frei. Geringe Konjunktivitis. Kein Exanthem. Zunge sehr belegt, aber feucht. Lungen o. B. Herz o. B. Abdomen weich. Milz überragt Rippenbogen um vier Querfinger. Hat mehrfach Durchfälle ohne Blut und Schleim.




23. II. 17 morgens Temperatur über 40°. Plötzlich ganz benommen. Lungen o. B. Herz o. B. Abdomen weich, nicht druckempfindlich. Keinerlei Lokalerscheinungen. Blutpräparat und dicker Tropfen enthalten keine Malariaplasmodien. Blutentnahme am 22. II. Weil-Felix 1:25 negativ.

24. II, 17 abends Exitus unter den Erscheinungen zentraler Gefäßlähmung.

25. II. Obduktion zur Feststellung der Todesursache:

Milz ums Vierfache vergrößert, sehr hart. Herz, Lungen o. B. An Bauch und Brustsitus sonst keine Besonderheiten. Milz enthält viel intra- und extrazelluläres Pigment. Keine Malariaparasiten im Abstrich zu finden. Abstrich auf Chinablau-Malachitgrün-Agar: Bac. Erzindjan in Reinkultur.

Ein kleines Blutkuchenpartikel des Serums vom 22. II. wird nachträglich in Galle gebracht und ergibt Reinkultur von Bac. Erzindjan. Das Serum selbst agglutiniert den eigenen Stamm und einen anderen Stamm von Bac. Erzindjan bis 1 : 50.

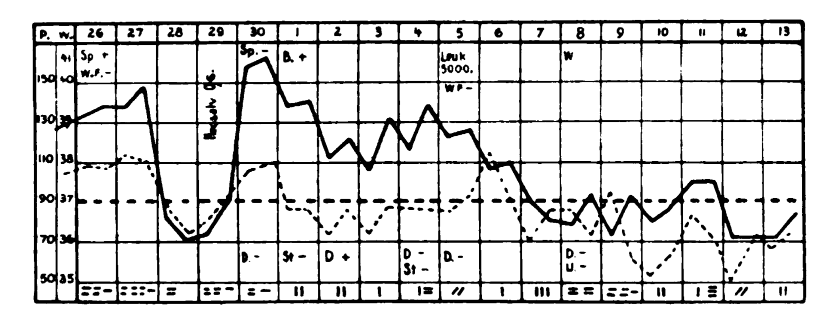
Diagnose: Alte Malaria. Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan.

Fall 8. Reinhold R., 30 Jahre.

**November-Dezember 1916.**

27. XI. Erkrankte am 24. VIII. mit Schüttelfrost und Durchfall. Lag 4 Tage krank, wurde dann bewußtlos. Lag so 16 Tage lang, die Haut schuppte nachher stark. Am 24. XI. mit hohem Fieber und Schüttelfrost erkrankt.

Kräftig gebauter Mann, mittlerer Ernährungszustand. Kein Exanthem. Herz, Lungen o. B. Milz überragt Rippenbogen um zwei Querfinger.




Am 26. XI. im Blut Rekurrensspirillen gefunden.

29. XI. Neosalvarsan 0·6.

30. XI. Erneuter Fieberanstieg. Im Blute keine Spirillen zu finden.

1. XII. Aus Blut wächst Bac. Erzindjan.

3. XII. 7. bis 12. Rippe rechts unten rauhes Atmen, Krepitieren.

Fühlt sich sehr elend; beim Aufrichten wird ihm schwarz vor den Augen. Akute Laryngitis.

9. XII. Zunge rein, Milz nicht palpabel.

27. XII. Zustand befriedigend.

8. II. Serum des Patienten agglutiniert Bac. Erzindjan bis 1 : 200.

Diagnose: Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan.

Fall 9. Offiziersstellvertreter Otto F., 32 Jahre.

**September 1916.**

Wohnt seit 8 Monaten in Konstantinopel. Einige Tage vor der Erkrankung leichte Kopfschmerzen. Am 7. IX. 16 stärkere Kopfschmerzen. Abends 38°. Schmerzen in den Augen, dem Nacken.

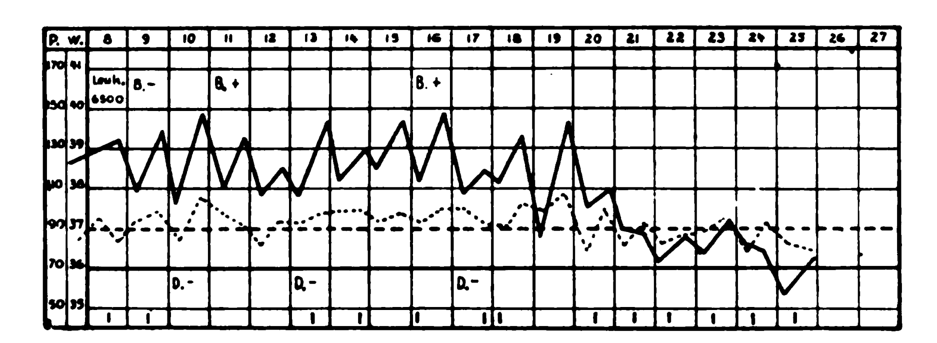
9. IX. Leicht gerötete Konjunktiven, leicht geröteter Rachenring. Herz, Lungen o. B. Milz nicht palpabel.

11. IX. Herpes auf dem linken Gaumenbogen. Fühlt sich wohl; sehr euphorisch. Etwas erregt. Keine Roseolen. Stuhl fest.

16. IX. Weiter sehr euphorisch. Lungen o. B.

22. IX. Entfiebert. Kein körperlicher Befund.

1. X. Steht auf.



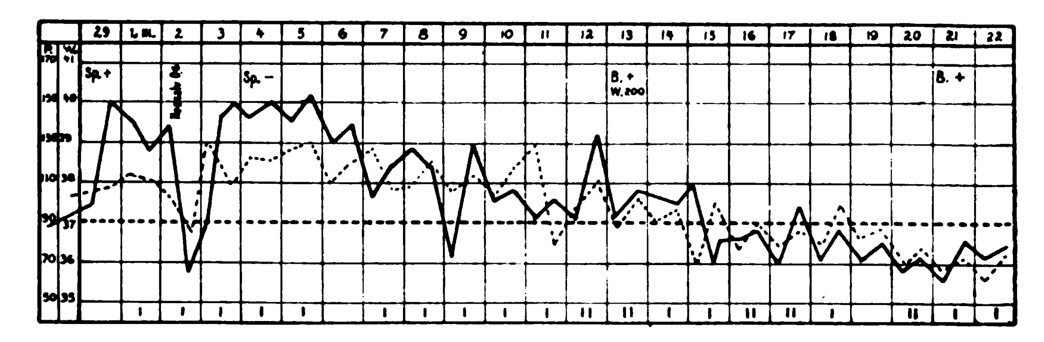

Bakteriologischer Befund: Am 11. und 16. IX. wächst aus dem Blut des Patienten Bac. Erzindjan.

Diagnose: Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan.

Fall 10. Sali M., 26 Jahre.

**Februar-März 1916.**

Am 29. II. 16 mit hohem Fieber eingeliefert. Im Blute finden sich Spirillen. Am 2. III. 16 0·6 Neosalvarsan. Absturz der Temperatur mit sofort anschließendem neuen Anstieg der Temperatur. Am 4. und 6. werden bei hoher Continua keine Rekurrensspirillen im Blute gefunden.




6. III. Sensorium benommen, hustet viel. Keine Spur von Exanthem. Herz o. B. Lungen: Diffuse Bronchitis. Über Unterlappen feinblasige feuchte Rasselgeräusche.

7. III. Über dem rechten Unterlappen Schenkelschall, Bronchialatmen verstärkter Stimmfremitus.

Zunge sehr belegt. Milz eben palpabel. Puls sehr elend, 130. Dreimal täglich 0·3 Koffein.



11. III. Zustand kritisch. Jagender Puls. Zyanose. Schwitzt stark.

13. III. Blutaussaat: Bac. Erzindjan +. Serum des Patienten agglutiniert eigenen Stamm 1 : 200, den Stamm Abdulla F. (Fall 6) 1 : 400.

16. III. Abgefiebert. Zustand noch sehr elend.

21. III. Wieder Blutaussaat: Bac. Erzindjan +.

5. IV. Gebessert entlassen.

Diagnose: Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan.

### Fall 11. Mehmed R., 17 Jahre.

**Januar 1917.**

25. I. Moribund eingeliefert.

Patient ist völlig bewußtlos. Stertor. Keinerlei Lokalsymptome. Kein Exanthem.

Blut enthielt keine Plasmodien oder Spirillen. Weil-Felixsche Reaktion 1 : 25 negativ.

Aus der Blutaussaat wächst Bac. Erzindjan.

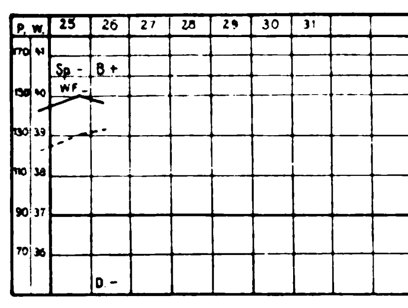
Das Serum agglutiniert Typhus 200 ++, 400 ÷.

| | | |
|---|---|---|
| Paratyphus A | 200 | +, 400 ÷, |
| Paratyphus B | 0, | |
| Bac. Erzindjan | 200 | ÷. |

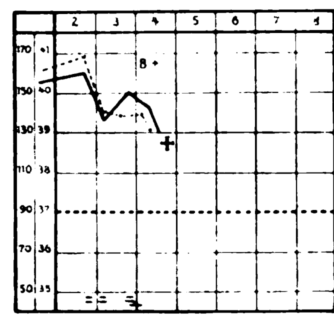
26. I. Exitus.

Keine Obduktion.

Diagnose: Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan.




Kurve zu Fall 11.




Kurve zu Fall 12.

### Fall 12. Nesrob B.

**Juni 1915.**

Am 2. VI. 15 in sehr elendem Zustand, ganz benommen, in das Erzindjaner Lazarett eingeliefert. Kein Exanthem. Im Blute keine Plasmodien und Spirillen.

Mehrfach täglich Durchfälle. Puls 140 bis 160.

3. VI. 15 Blutaussaat: Bac. Erzindjan.

4. VI. 15 Exitus.

Keine Obduktion möglich.

Diagnose: Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan.

Fall 13. Hassan B., 35 Jahre.

**April 1916.**

Am 2. IV. 16 aufgenommen. Angeblich seit 12 Tagen bereits dauernd Fieber.

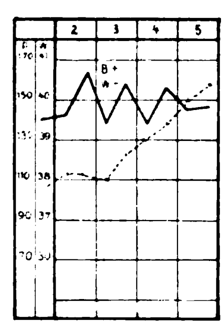
Zunge stark belegt. Sehr schwer benommen. Kein Exanthem. Herz o. B. Lungen Schall o. B. Trockene diffuse Geräusche. Keine Ödeme. Im Urin Eiweiß +, Diazo 0. Blut: Malaria 0. Spirillen 0. Etwas Zahnfleischskorbut. Haarbalgblutungen an den unteren Extremitäten.

Blutaussaat am 3. IV. ergibt Bac. Erzindjan.

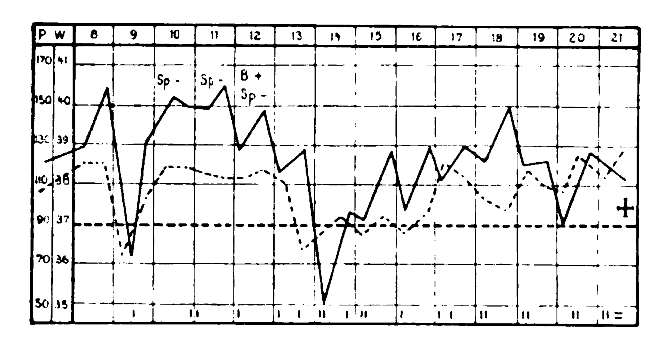
Das Serum zeigt weder für Typhus noch Paratyphus A, B und Bac. Erzindjan Agglutination.

Obduktion ergibt linke Oberlappenpneumonie, Milzschwellung, keine Darmveränderungen. Aus Milz und Lunge Reinkultur von Bac. Erzindjan.

Diagnose: Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan.



Kurve zu Fall 13.



Kurve zu Fall 14.

Fall 14. Hassan J., 36 Jahre.

**Juni 1915.**

Am Tage nach der Aufnahme starker Absturz der Temperatur. Neuer Anstieg am 9. VI. 15 nachts. Schwerer Allgemeinzustand. Hautblutungen an Rumpf und Extremitäten. Herz o. B. Keine schweren Lungenerscheinungen.

12. VI. Blutaussaat: Bac. Erzindjan.

14. VI. Morgens kollapsartiger Temperatursturz.

15. VI. Heftige Angina, starke Drüsenschwellungen am Halse.

Patient hat, um das nach dem Glauben der Anatolier heilsame Nasenbluten hervorzubringen, mit dem Finger die Nase zum Bluten gebracht.

19. VI. Von der Nase ausgehendes schweres Erysipel.

21. VI. Exitus.

Die Obduktion ergibt neben weicher Schwellung der Milz frische Narben im Colon ascendens.

Diagnose: Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan. Tod durch komplizierendes Erysipel.



Fall 15. Mehmed L., 25 Jahre.

Temperaturkurve fehlt.

August 1916. Patient wurde im Zustand völliger Bewußtlosigkeit eingeliefert, schluckte nicht, ließ alles unter sich. Continua eine Woche lang zwischen 39·5 und 41·0 bei anhaltender tiefster Bewußtlosigkeit.

Kein Exanthem. Zunge weiß belegt wie bei Typhus abdominalis. Diazo +. Reflexe vorhanden.

Dann lytischer Abfall und Heilung.

Aus dem Blute auf der Höhe des Fiebers Bac. Erzindjan gewachsen. Der Fall wurde im August beobachtet. Fleckfieber kam differentialdiagnostisch nicht in Frage.

Diagnose: Allgemeininfektion durch Bac. Erzindjan.

Betrachten wir die 15 dargestellten Fälle im Zusammenhang, so muß vor allem die hohe Mortalität von 7 unter 15 auffallen; auch die überlebenden 8 Patienten waren in Lebensgefahr.

Die Fieberkurve erinnert bei einigen, z. B. Fall 4 und 9, an Typhus abdominalis. Im ganzen schien uns eine Verwechslung des klinischen Bildes mit Typhus aber nur im Anfangsstadium als naheliegend. Wesentliche Unterschiede gegenüber dem Typhus sind folgende: Die Darmerscheinungen traten bei den meisten der dargestellten Fälle in den Hintergrund. Wie die Obduktionen der Fälle 3 und 13 zeigen, können auch pathologisch-anatomisch alle für Typhus charakteristischen Darmveränderungen fehlen. Dementsprechend gelang es bei den typhös-septischen Fällen nur selten, die Bazillen im Stuhl zu finden. Dagegen zeigt der Bac. Erzindjan eine große Neigung, in anderen Organen lokale Veränderungen hervorzurufen: Unter den dargestellten 17 Fällen finden sich zwei mit durch den Erreger der Allgemeininfektion verursachter Meningitis purulenta, einer bei Typhus äußerst seltenen Komplikation (Fall 3 und 6). Bei Fall 3 wies starker Ikterus auf lokale Veränderungen an Leber oder Gallenwegen hin. Bei Fall 3 waren multiple Nierenabszesse vorhanden. Fall 2 hatte während und monatelang nach der Erkrankung Leukozyten und Zylinder in dem bazillenhaltigen Urin, ebenfalls Erscheinungen, die auf lokalen Ansiedlungen der Bazillen in den Nieren beruhen dürften. Die mit großer Geschwindigkeit tödlich verlaufenen Fälle 11, 12 und 13 machten klinisch den Eindruck schwerster septischer Zustände.

Bronchopneumonien fehlten fast nie, nahmen mehrfach einen sehr gefährlichen Verlauf, doch ist deren spezifischer Charakter nicht zu beweisen.

Das Sensorium war bei allen Fällen, z. T. schwer, beeinträchtigt. Roseolen waren seltener, die Diazoreaktion nicht konstanter als bei Typhus abdominalis (unter 15 Fällen 7mal +).



Relative Pulsverlangsamung war dann öfters vorhanden, wenn sie nicht durch die Lungenerscheinungen aufgehoben wurde. Soweit Leukozyten gezählt wurden, bestand keine Leukozytose, es fanden sich Werte zwischen 5000 und 7000.

8 Patienten litten an Durchfällen, bei zweien bestand Ähnlichkeit der Stühle mit Typhusstühlen.

Von Paratyphus A ist die Krankheit von Grund aus durch ihren schweren septischen Charakter unterschieden, auch „Paratyphus B abdominalis“ dürfte wohl selten so heftige Formen annehmen. Am meisten erinnern mich die Fälle an einen rein septisch verlaufenen Fall von Allgemeininfektion durch Bac. paratyphi B mit tödlichem Ausgang, den ich 1913 in der Kgl. Medizinischen Klinik in Kiel sah. — Im ganzen steht der Paratyphus Erzindjan nicht auf der klinischen Stufenleiter zwischen Typhus und dem harmloseren Paratyphus, sondern an Virulenz übertrifft der Erreger offenbar auch das Bact. typhi. Will man die Krankheit klinisch charakterisieren, so muß man sie zwischen Typhus und die Krankheitsbilder der Sepsis stellen.

Ebenso wie bei den anderen Erregern aus der Typhusgruppe kommen auch leichte und Abortivfälle unter den durch Bac. Erzindjan bedingten Erkrankungen vor. Fall 16 bis 18 habe ich als solche aufgefaßt. Fall 19 war ebenfalls nicht sehr schwer, der Tod erfolgte durch komplizierendes Fleckfieber.

### B. Leichte Allgemeininfektionen.

#### Fall 16. Ramdil Ch., 30 Jahre.

**Dezember 1916.**

Aufgenommen am 7. XII. 16. Anamnese wegen Sprachschwierigkeiten (indischer Kriegsgefangener) nicht möglich.

Kräftiger Mann. Zunge feucht, nicht belegt. Lungen: Leichte Bronchitis. Herz o. B. Milz nicht palpabel. Leber nicht vergrößert. Abdomen weich, im Epigastrium etwas druckempfindlich.

12. XII. Entfiebert.

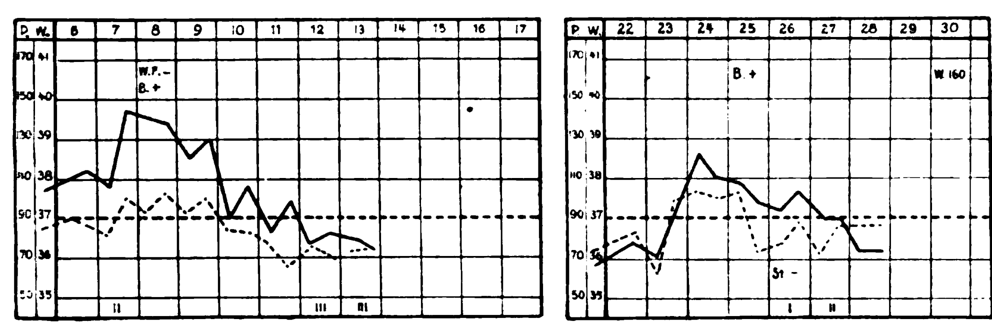
22. XII. Ausbruch von Fleckfieber (nach mindestens 16 Tagen Inkubationszeit). Am 1. I. Weil-Felix 1:200 ++.

22. I. Geheilt entlassen.

Bakteriologische Befunde: 8. XII. wächst aus dem Blute Bac. Erzindjan. Am 19. XII. agglutiniert das Krankenserum Bac. Erzindjan 1:400 ++.

Diagnose: Leichte Allgemeininfektion mit Paratyphus Erzindjan.






Kurve zu Fall 16. Kurve zu Fall 17.

Fall 17. Beiram A., 58 Jahre.

**Juli 1916.**

Am 28. VII. 16 mit heftigen wäßrig grünlichen Durchfällen erkrankt. Kein Erbrechen. Glaubt nach Genuß von Grünzeug erkrankt zu sein. Hat vor der Aufnahme angeblich kein Fieber gehabt.

22. VII. Status: Abgemagerter Mann. Zunge sehr trocken. Bauch auffallend aufgetrieben. Milz deutlich palpabel, hart. Sensorium völlig frei. Keine Roseolen.

24. VII. 16. Leichter Fieberanstieg.

25. VII. 16. Aus dem Blut Bac. Erzindjan gezüchtet.

28. VII. 16. Völlig abgefiebert, fühlt sich wohl. Im Stuhl keine Paratyphusbazillen gefunden.

30. VII. Krankenserum agglutiniert Bac. Erzindjan 1 : 60.

Diagnose: Allgemeininfektion mit Bac. Erzindjan (Nahrungsmittelvergiftung ?).

Fall 18. Hermann L., 29 Jahre. (Kurve 18, Taf. III.)

**September-Dezember 1916.**

Kommt aus dem Amanusgebiet. Dort am 16. IX. 16 plötzlich mit Schüttelfrost, geschwollenen Füßen, schleimigem Stuhlgang erkrankt. Seit dieser Zeit dauernd unregelmäßige Fieberanfälle. Klagt über Husten, schweres Atmen, Schlappheit in den Gliedern. Hat Chininprophylaxe getrieben.

10. X. 16. Kräftig gebauter Mann. Mittlerer Ernährungszustand. Hautfarbe blaß. Zunge trocken. Keine Drüsenschwellungen. Über dem rechten Unterlappen Knisterrasseln. Herz o. B. Milz nicht palpabel. Auch perkutorisch nicht vergrößert. Lebergrenzen normal. Reflexe vorhanden.

Am 9. X. wird im Blute Malaria tropica nachgewiesen. Darauf intensive Chininbehandlung.

Im weiteren Verlauf ganz unregelmäßige niedrige Temperaturzacken, bei denen nie mehr im Blute Malariaplasmodien gefunden wurden.

Vom 8. bis 14. XI. kommt es zu einer kurzen niedrigen Continua. Es entsteht klinischer Verdacht auf Paratyphus.

Am 13. und 20. XI. wird im Urin Bac. Erzindjan nachgewiesen. Urin von der Aufnahme an eiweißhaltig. Enthält im Dezember auch zahlreiche Leukozyten und einige hyaline Zylinder.

Am 3. Januar erneut Bac. Erzindjan im Urin gefunden.

Am 1. Februar entlassen.

Am 29. XII. agglutinierte das Serum des Patienten Bac. Erzindjan 1:800.

Diagnose: Leichte Allgemeininfektion mit Bac. Erzindjan.

Bei Fall 16 und 17 stützt sich die Diagnose nur auf den Nachweis des Bac. Erzindjan im Blute bei einer sonst ziemlich harmlos ohne Lokalsymptome verlaufenden Fiebersteigerung. Im Fall 17 glaubte der Patient selbst, infolge von Genuß verdorbener Nahrung erkrankt zu sein.

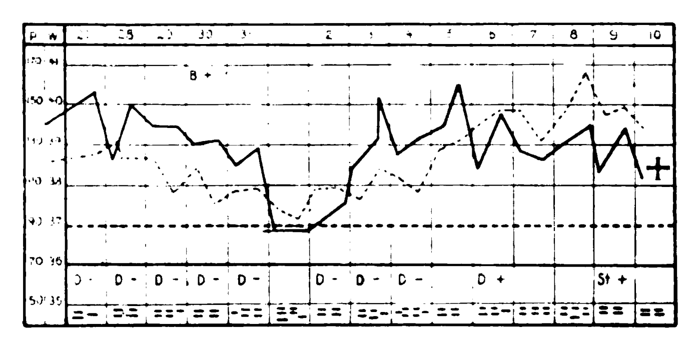
Klinisch steht Fall 18 ganz für sich allein da. Hermann L. war, nachdem der Tropicaanfall, mit dem er aufgenommen wurde, durch Chinin beseitigt war, in seinem Wohlbefinden gar nicht mehr gestört. Nur die Temperaturkurve, deren völlige Unregelmäßigkeit auffallender war, als die erreichten Höhen, wies beim andauernden Fehlen von Plasmodien im „Dicken Tropfen" schließlich mit Bestimmtheit auf das Vorhandensein irgendeiner bakteriellen Infektion hin. Der Befund des Bac. Erzindjan im Urin und die Agglutination desselben durch das Serum des Patienten in der Verdünnung 1:800 genügen wohl, um den Bac. Erzindjan für die Temperaturerhöhungen verantwortlich zu machen.

### Fall 19. Mehmed R., 20 Jahre.

**März-April 1916.**

Bei der Aufnahme Knarren über beiden Unterlappen. Milz nicht palpabel. Zunge trocken und rissig. Heftige unblutige Durchfälle.

30. III. 16. Milz jetzt deutlich vergrößert. Kein Exanthem. Starke Prostration. Blutaussaat: Bac. Erzindjan gewachsen.



1. IV. Fieber abgefallen.

5. IV. Auf dem Rücken sehr zarte blasse Roseolen in wachsender Zahl.

7. IV. Roseolen haben sich weiter vermehrt. Diazoreaktion +. Starke Prostration.





9. IV. Knisterrasseln über beiden Lungen. Roseolen haben weiter zugenommen, auch an den Extremitäten. Aus Stuhl wächst Bac. Erzindjan.

10. IV. Exitus.

Obduktion nicht möglich.

Diagnose: Allgemeininfektion mit Bac. Erzindjan, anschließend Fleckfieber.

Auch bei Fall 20 bis 26 wurde Bac. Erzindjan im Blute nachgewiesen. Sie traten aber unter ganz anderen klinischen Erscheinungen auf als die bisher geschilderten Fälle. Es handelte sich um ruhrartige Zustände mit sehr geringer Heilungstendenz. Sie gehören außer Fall 21, 24 und 25, die in Kostantinopel beobachtet wurden, der in Erzindjan beobachteten Epidemie an.

Fall 27 ist als eitrige Pyelonephritis durch Bac. Erzindjan aufzufassen.

### C. Dysenterische Fälle.

Fall 20. Merdjan F., 25 Jahre.

**April-Mai 1915.**

Am 2. IV. 15 mit niedrigen Fiebertemperaturen aufgenommen. Außer etwas Bronchitis kein objektiver Befund. Im Blutausstrich keine Spirillen zu finden. Ziemlich zahlreiche Durchfälle ohne Blutbeimengung.

13. IV. Schüttelfrost. Im Blute keine Spirillen zu finden.

18. IV. Erneute Fröste. Schlechter Puls. Elendes Aussehen.

24. IV. Blutaussaat: Bac. Erzindjan +.

26. IV. Wieder Schüttelfrost.

Blutaussaat: Bac. Erzindjan +.

1. V. Seit einer Woche Continua. Immer stärker einsetzende Durchfälle. Blut und Schleim in den Entleerungen.

2. V. Blutaussaat: Bac. Erzindjan.

3. V. Völlig ertaubt, doppelseitige Otitis media.

5. V. Morgens Untertemperatur. Sehr elender Zustand. Gehäufte Durchfälle.

8. V. Exitus.

Obduktion: Hochgradige Abmagerung. Milzschwellung. Starke Schwellung der Mesenterialdrüsen. Im ganzen Colon große unregelmäßig begrenzte frische Ulzerationen. Aus der Milz wächst Bac. Erzindjan.

Fall 21. Apostol St., 20 Jahre.

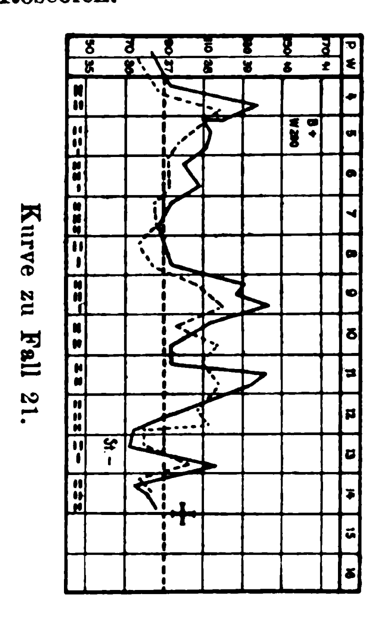
**April 1916.**

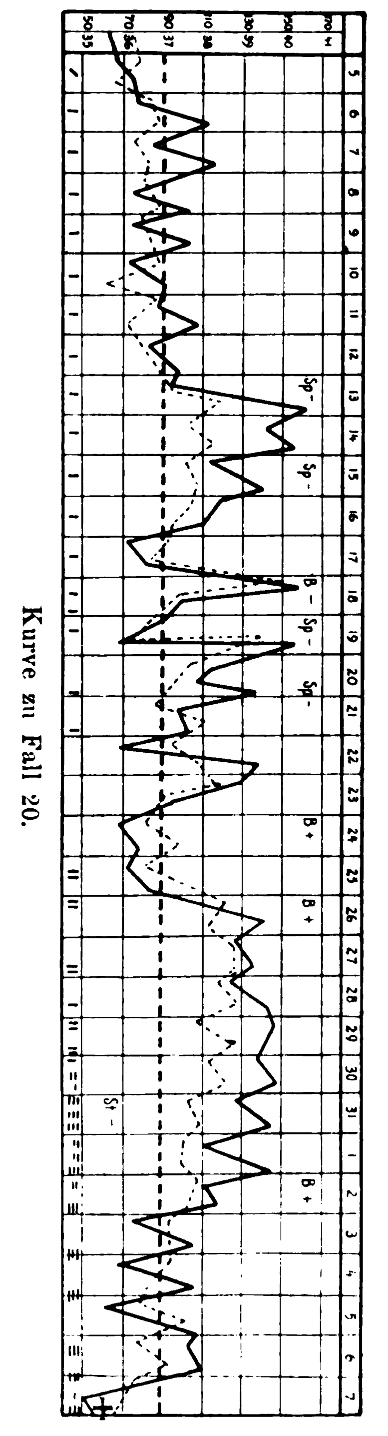
Seit 10 Tagen krank.

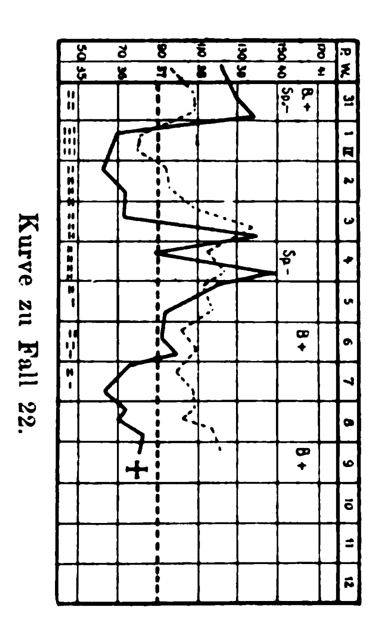
4. IV. 16. Sehr benommen und völlig somnolent. Elender Allgemeinzustand. Diffuse feuchte und trockene Geräusche über beiden Lungen. Vorn oben links auch Schallverkürzung. Herz o. B. Kein Exanthem. Abdomen eingezogen.



10. IV. Noch sehr benommen. An Brust und Bauch im ganzen etwa 10 Roseolen.


Kurve zu Fall 21.


Kurve zu Fall 20.


Kurve zu Fall 22.

12. IV. Läßt unter sich. Schwer benommen. Heftige Durchfälle, die stets blutigen Schleim enthalten.

14. IV. Abends Exitus.

Obduktion am 15. IV. 16 morgens (durch Verfasser): Sehr abgemagerte Leiche eines jungen Mannes. In der Haut des Rumpfes und der Extremitäten einige Petechien. Herz kleiner als Faust der Leiche, gelbe Farbe des Herzmuskels. Lungen adhärent. In den Unterlappen Hypostase. Milz auf das Drei- bis Vierfache vergrößert, hart. Nierenparenchym getrübt.

Serosa des Colon und Ileum injiziert. Mukosa, besonders des Colon transversum, durchsetzt von flachen, hirsekorngroßen, tiefroten Herden, die dicht wie Masernexanthem stehen. Nach dem Colon descendens und dem Colon sigmoideum zu konfluieren sie vollkommen. Keine Ulzeration. Mesenterialdrüsen stark geschwollen.

Bakteriologische Befunde: Aus Blutaussaat vom 5. III. ist Bac. Erzindjan gewachsen. Im Stuhl sind am 13. IV. keine Paratyphus- oder Dysenteriebazillen gefunden worden. Milzaussaat steril.

### Fall 22. Dursum J., 28 Jahre.

**März-April 1915.**

Am 31. III. 15 ins Erzindjan Rote Kreuz-Lazarett eingeliefert. Außerordentliche Abmagerung. Zahllose blutig-eitrige Stühle. Im Blut keine Spirillen zu finden. Kein Exanthem.

31. III. Blutaussaat: Bac. Erzindjan +. Stuhl: keine Dysenterie- oder Paratyphusbazillen.

4. IV. Septische Temperaturen. Puls elend.

6. IV. Blutaussaat: Bac. Erzindjan +.

9. IV. Exitus. Obduktion nicht möglich.

### Fall 23. Mehmed M., 25 Jahre.

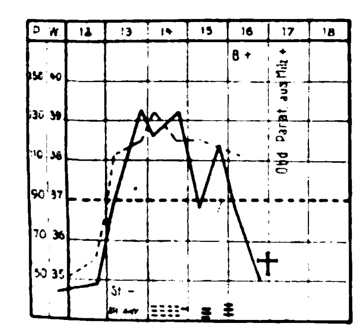
**April 1915.**

Am 12. IV. 15 in kollabiertem Zustande eingeliefert. Sehr reduzierter Allgemeinzustand. Erholt sich etwas nach Kampferinjektionen.

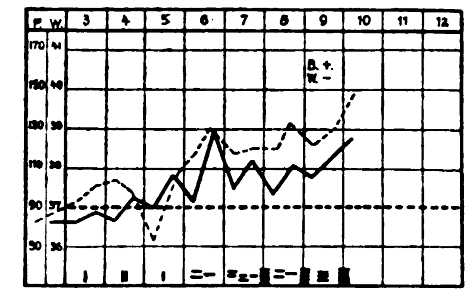
13. IV. 39·0°. Blutpräparat: Spirillen 0.

Zahllose blutig-eitrige Stühle, die Patient unter sich läßt. Im Stuhl keine Dysenteriebazillen nachweisbar.

14. IV. Blutpräparat negativ.

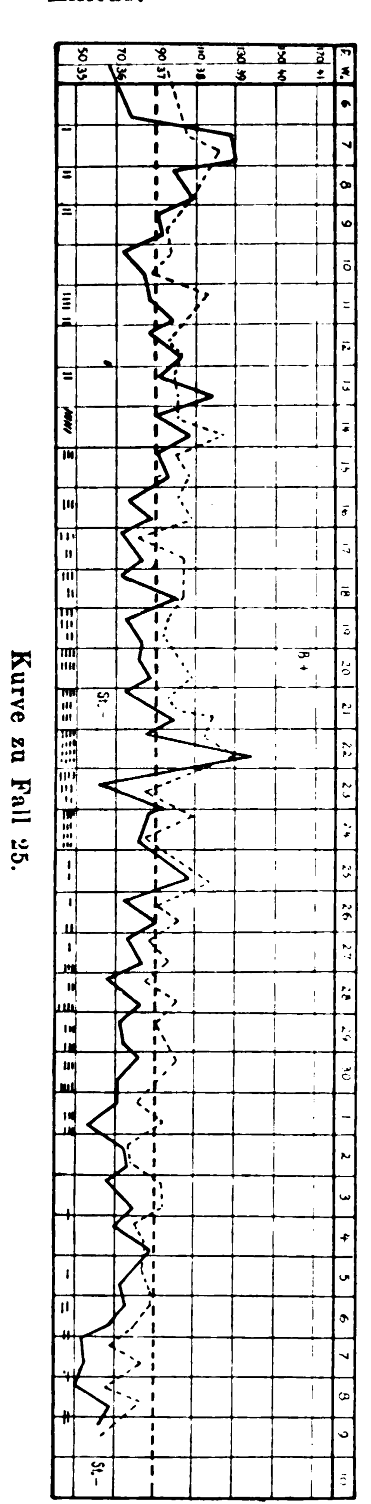


Kurve zu Fall 23.



Kurve zu Fall 24.

16. IV. Früh 8 Uhr Blutaussaat: Bac. Erzindjan +. Abends 8 Uhr Exitus.



Kurve zu Fall 25.

**Obduktion**: Herz, Lungen ohne wesentlichen Befund. Milz ums Doppelte vergrößert. Dünndarm frei. Im Mesenterium und Mesocolon geschwollene Lymphdrüsen. Im ganzen Colon zahlreiche bis linsengroße flache Geschwüre mit schmierigem Grund. Im Colon descendens und an der Flexura sigmoidea große quergestellte Geschwüre, den Falten entsprechend.

Aussaat der Milz direkt und nach Anreicherung in Bouillon ergibt Bac. Erzindjan in Reinkultur.

Aus dem Darminhalt wachsen keine Dysenterie- oder Paratyphusbazillen.

### Fall 24. Mehmed Abd., 34 Jahre.

**Mai 1916.**

Am 23. IV. 15 in elendem Zustande aus einem anderen Krankenhaus verlegt, wo Patient wegen Verwundung gelegen hatte. Blutige Durchfälle.

5. V. Temperaturanstieg. Rapide Zunahme der blutigen Durchfälle. Keine Dysenteriebazillen nachzuweisen.

9. V. Blutaussaat: Bac. Erzindjan +.

10. V. Exitus.

### Fall 25. Mehmed Ali, 30 Jahre.

**April-Mai 1916.**

Seit mehreren Tagen Husten und Fieber.

7. IV. 15. Diffuse Bronchitis. Sputum: Tuberkelbazillen 0. Temperatur unregelmäßig schwankend.

16. IV. Seit 4 Tagen sehr heftige Durchfälle mit blutigem Schleim.

19. IV. Weder in Sputum noch Stuhl können Tuberkelbazillen gefunden werden.

20. IV. Blutaussaat: Bac. Erzindjan +. Zunehmende Heiserkeit.

Laryngoskopie: Ulcus in der rechten Arygegend.

5. V. Durchfälle im Nachlassen.

17. V. Heiserkeit geschwunden. Ulcus laryngoskopisch nicht mehr zu erkennen.

30. V. Geheilt entlassen.

Fall 26. Ali M., 33 Jahre. (Kurve 26, Taf. III.)

**April 1915.**

Gibt an, er habe seit 14 Tagen dauernd Fieber gehabt, dabei heftige Durchfälle ohne Blut.

11. IV. 15. Reduzierter Ernährungszustand. Zahlreiche unblutige Durchfälle.

Blutaussaat: steril.

12. IV. Im Stuhl keine Dysenterie- oder Paratyphusbazillen zu finden.

16. IV. Fieberanstieg. Kein deutlicher Lokalbefund. Blutaussaat: Bac. Erzindjan +.

25. IV. Erneuter Fieberanstieg. Blutaussaat: steril.

30. IV. Heftige blutige Durchfälle.

3. V. Blutaussaat: steril.

8. V. Durchfälle ganz unstillbar. Puls elend. Aussehen völlig verfallen und abgemagert.

13. V. Höchstgradig denkbare Abmagerung.

20. V. Exitus.

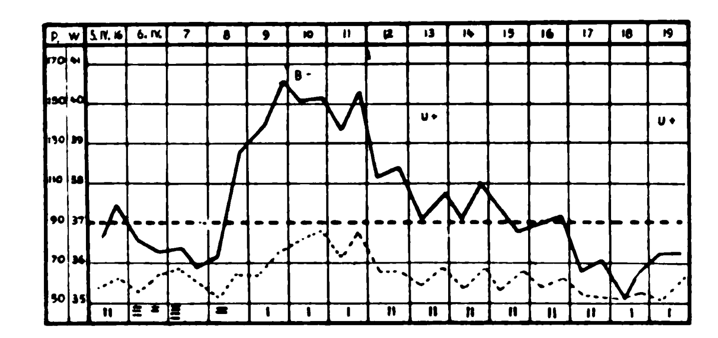
Obduktion: Hauptbefund: Colon in allen Teilen von konfluierenden zahllosen Geschwüren durchsetzt. Milz etwas vergrößert.

Milz: Aussaat steril. Lunge: Aussaat steril. Darm: Es wachsen keine Dysenterie- oder Paratyphusbazillen.

## D. Pyelonephritis.

Fall 27. Hussein M., 26 Jahre.

**April 1916.**




Gibt an, er habe 10 Tage lang Durchfälle gehabt. Bei der Aufnahme (25. II.) deutliche Milzschwellung. Zahnfleischskorbut.

7. III. Vorübergehend einige Durchfälle. Sonst kein somatischer Befund.

8. III. Plötzlicher Fieberanstieg auf 40·5°. Entleerung von blutig-eitrigem Urin. Starke Rückenschmerzen. Blutpräparat und Blutaussaat o. B. Aus dem Urin wächst am 13. und 19. IV. Bac. Erzindjan.

10. V. Geheilt entlassen.

Diagnose: Pyelonephritis durch Bac. Erzindjan.



Fall 20 bis 26 verliefen sämtlich unter dem Bilde der Ruhr. Soweit Obduktionen vorgenommen wurden, fanden sich ausgedehnte Ulzerationen im Colon, die sich nicht von denen bei bazillärer Ruhr unterschieden. Der Verlauf aller dieser Fälle war charakterisiert durch äußerst geringe Heilungstendenz, rapide Abmagerung und unregelmäßige Temperaturen, die oft gering blieben wie bei Fall 25. Zuweilen kam es zu eigentümlichen septischen Zacken. Öfter waren mitten im Verlauf Ansätze einer Continua zu erkennen (Fall 20 und 26). Das Sensorium war auffallenderweise oft ganz frei. Die Diazoreaktion im Urin war negativ.

Bei der Mehrzahl der etwa 100 Fälle in Erzindjan, die klinisch als Ruhr verliefen und die in etwa 50 Prozent zum Tode führten, fehlte jeder bakteriologische Befund. Besonders blieb alles Suchen nach Dysenteriebazillen vergeblich. Das einzige, was zu finden war, war Bac. Erzindjan im Blute bei 25 dieser Fälle.

Es ist bei diesem Krankheitsbilde im Gegensatz zu dem typhös-septischen und zu dem Fall von Pyelonephritis nicht angängig, die ätiologische Bedeutung des Bac. Erzindjan als völlig sicher hinzustellen, besonders, da die Bazillen wohl im Blute, selten aber im Stuhl gefunden wurden. Sie kann aber als wahrscheinlich gelten, da in keinem Falle dieser Art andere ätiologisch in Frage kommende Organismen nachzuweisen waren, insbesondere weder Dysenteriebazillen noch Amöben.

Dysenterische Krankheitsbilder bei Paratyphus B sind jedenfalls häufig beschrieben, ebenso sind Ulzerationen im Dickdarm an Fleischvergiftung durch Paratyphusbazillen Gestorbener öfters gefunden worden (2). Ganz ohne Analogie wäre diese Epidemie demnach nicht.

Der Überblick über alle 27 hier wiedergegebenen Krankheitsgeschichten ergibt, daß der Bac. Erzindjan sehr verschiedene Krankheitsbilder hervorrufen kann und in dieser Beziehung dem Bac. paratyphi B nahesteht. Die Extreme sind einerseits Fall 3, der unter dem klinischen Bilde der Sepsis verlief, mit Lokalisationen des Bacillus u. a. in Nieren und Meningen, andererseits etwa Fall 25, der sich fast fieberfrei, bei freiem Sensorium, ruhrartigen Durchfällen und mit subakuter ulzerierender Laryngitis abspielte.

Leichteste Beeinträchtigungen des Allgemeinbefindens wie Fall 18 stehen neben den zahlreichen tödlich verlaufenen Erkrankungen.

Es gehören demnach die Erkrankungen durch Bac. Erzindjan zu denjenigen Leiden, deren rein klinische Diagnose vorläufig unmöglich erscheint. Verwechslungen mit Typhus, Paratyphus und Ruhr werden sich nicht vermeiden lassen.

Die Therapie muß sich nach den für Typhus bzw. bazilläre Dysenterie gültigen symptomatischen Vorschriften richten.



## II. Bakteriologischer Teil.

Dammann und Stedefeder (3) beschrieben bei Schweinepest 1910 einen von Bac. sui pestifer abweichenden, in seinem kulturellen Verhalten dem Typhus näherstehenden Stamm, den sie Bac. sui pestifer Voldagsen nannten. Mit diesem Stamm für identisch halten Haendel und Gildemeister (4) den Bac. typhi suis Glässer (5). Haendel und Gildemeister isolierten auch selbst Stämme, die serologisch nicht von der Gruppe Glässer-Voldagsen zu unterscheiden waren, die aber kulturell sich ganz wie Bac. sui pestifer und wie Paratyphus B verhielten. Sie betonen die hochgradige kulturelle Variabilität des Bac. Voldagsen, der oft frisch isoliert Traubenzucker nicht vergärt, diese Eigenschaft in der Kultur aber bald gewinnt. Haendel und Gildemeister halten ebenso wie Uhlenhuth (6) den Bac. Voldagsen bei der durch ein filtrierbares Virus verursachten Schweinepest für ätiologisch bedeutungslos. Schern und Stange (7) halten Bac. Glässer und Bac. Voldagsen für Varietäten des Bac. sui pestifer.

Über menschliche Erkrankungen durch Paratyphusbakterien der Voldagsengruppe gibt es hauptsächlich eine Angabe und zwar die von G. Bernhardt (7).

Bernhardt fand Bakterien dieser Gruppe in den Organen einer an Fleischvergiftung gestorbenen Frau. Das Serum der überlebenden Personen agglutinierte den aus der Leiche gezüchteten Stamm. Im ganzen hat Bernhardt drei Todesfälle durch Genuß mit Voldagsenbazillen infizierten Fleisches gesehen. Die Stämme Bernhardts wuchsen erst mehr wie Typhus, später mehr wie Paratyphus B. Agglutinatorisch ergab sich Verwandtschaft zu Paratyphus B. Bernhardt nennt seine Bakterien daher „Paratyphus B-Bazillen vom Typus Voldagsen". Die von ihm bakteriologisch beobachteten Fälle waren sämtlich sichere Fleischvergiftungen. Der Verlauf war choleraartig, ging mit unstillbarem Erbrechen, Durchfällen, Tenesmen, Wadenkrämpfen einher. Im Gegensatz zu Bernhardt hielt Neumark (8) das Vorkommen des Bac. Voldagsen beim Menschen noch nicht für sicher erwiesen.

Der klinische Unterschied zwischen Bernhardts Fällen und den meinen ist groß. Dort deutliche und in ihrem Zusammenhang geklärte Fleischvergiftungen von choleraartigem Charakter, hier an zwei durch 1000 km getrennten Punkten der Türkei beobachtete zahlreiche menschliche Allgemeininfektionen, die wohl durch infizierte Nahrungsmittel irgendwelcher Art entstanden sein mögen, die aber gewiß keine Nahrungsmittelvergiftung im engeren Sinne waren, bei denen vielmehr eine Übertragung

von Mensch zu Mensch sehr wohl möglich war. Beiden Beobachtungen gemeinsam scheinen folgende Punkte: Bernhardts wie meine Bakterien stehen in der Kultur dem Paratyphus B nahe, gehören aber serologisch der Voldagsengruppe an. Bei beiden Beobachtungen waren die Erreger äußerst gefährlich.

Die von mir gefundenen Bakterien zeigen kulturell ganz konstante Eigenschaften, die denen des Paratyphus B und des Bac. sui pestifer gleichen. Sie verhalten sich demnach in der Kultur nicht wie die Stämme von Glässer, Dammann und Stedefeder, sondern wie die Paratyphus B ähnlichen, später gefundenen Voldagsenstämme von Haendel und Gildemeister (4). Sie wachsen auf Drigalskiagar blau und glasig entweder kreisrund mit scharfem oder mit buchtigem, mehrfach konturiertem, unscharf sich absetzendem Rande. Auf Chinablau-Malachitgrün-Agar, der entfärbt wird, kommt es bei Wachstum bei Zimmertemperatur zu Wallbildung. Milchzucker wird nicht vergoren, Traubenzucker schwächer und langsamer als durch Paratyphus B. Milch bleibt unverändert. Indol wird in Peptonwasser auch nach 7 Tagen noch nicht gebildet. Die Bazillen sind stark beweglich und gramnegativ. Das Verhalten von 12 meiner Stämme gegenüber Lackmusmolke im Vergleich zu verwandten Bakterien zeigt Tabelle I.

Sämtliche 12 in der Tabelle enthaltenen Stämme verhalten sich demnach in Lackmusmolke wie Paratyphus B, Bac. sui pestifer und Bac. sui pestifer Amerika des Kaiserl. Gesundheitsamts, stehen aber in Gegensatz zu den Voldagsenstämmen, dem Stamm Glässer, zu Typhus und Paratyphus A.

Die folgende Übersichtstabelle II zeigt das Verhalten einer Reihe von Stämmen gegenüber agglutinierenden Sera von Typhus, Paratyphus A und B, sowie Voldagsenserum. Mit Ausnahme des vom Paltaufschen Institut bezogenen Paratyphus A-Serums stammen die verwendeten Sera vom „Institut Robert Koch". Neben dem Glässerserum dieses Instituts verwendeten wir ein mit unserem Stamm Gustav Z. 1266 hergestelltes Kaninchenserum, das etwa den gleichen Titer hat, wie jenes. Die Resultate, die mit unserem Serum erzielt wurden, decken sich mit minimalen Abweichungen so genau mit den Agglutinationen durch das Berliner Glässerserum, daß die Anlage einer weiteren Rubrik für unser Serum sich erübrigt hat. Die Rubrik gilt vielmehr, soweit nicht Besonderes vermerkt, auch für Serum von Bac. Erzindjan.

Zweierlei muß an der Tabelle auffallen: Zunächst das negative Verhalten unserer Stämme gegenüber Typhusserum im Gegensatz zu dem Berliner Stamm Glässer. Des weiteren muß aber die Rubrik „Paratyphus B-Serum" Aufmerksamkeit erregen wegen der außerordentlichen Verschiedenheiten, die hier die einzelnen Stämme aufweisen.



## Tabelle I.
### Verhalten in Lackmusmolke.

| | Stamm | Nach 24 Stunden Farbe | Nach 48 Stunden Farbe | Nach 4 Tagen Farbe | Nach 10 Tagen Farbe | Wird durch Glässerserum agglutiniert? |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Türkische Stämme | Dursum Ibr. (Ers. 11) | rötlich | blau | blau | blau | ja |
| | Sali M. 81 | " | rötlich | " | " | " |
| | Sali Abd. 59 | " | blau | " | " | " |
| | Otto F. 480 | " | " | " | " | " |
| | Hermann L. 1080 E. | " | " | " | " | " |
| | Gustav Z. 1392 | " | " | " | " | " |
| | Achmed O. 2164 | " | " | " | " | " |
| | Emin M. 2221 D | " | " | " | " | " |
| | Emin M. 2221 G | " | " | " | " | " |
| | Achmed O. $2190_2$ B | " | " | " | " | " |
| | Achmed O. $2190_8$ | bläulich | " | " | " | " |
| | Achmed O. $2190_{12}$ a | rötlich | " | " | " | " |
| Vergleichsstämme | Voldagsen I. K. G. A. | rötlich | rötlich | rot | rot | ja |
| | Vold.-Dammann II. K. G. A. | " | " | " | " | " |
| | Vold.-Dammann III. K. G. A. | " | " | " | " | " |
| | Schweinepest Glässer K. G. A. | violett | violett | rötlich | rötlich | " |
| | Suipestifer Amerika 699 K. G. A. | rötlich | blau | blau | blau | " |
| | Amerika 704 | " | rötlich | " | " | " |
| | Amerika K. G. A. | " | " | " | " | " |
| | Pestifer 327 K. G. A. | " | blau | " | " | " |
| | Pestifer 339 " | " | rötlich | rötlich | rot | " |
| | Pestifer 564 " | violett | blau | blau | blau | nein |
| | Parat. A (Inst. R. Koch) | rötlich | rötlich | rötlich | rötlich | " |
| | Parat. $B_+$ $Kiel_1$ | " | blau | blau | blau | " |
| | Typhus Kiel | " | rot | rot | rot | " |

Es wäre das an sich nicht so auffallend, wenn es sich stets nur um verschiedenartige Stämme bei verschiedenen Patienten handelte. Tatsächlich kommen aber die beiden Typen, der durch Paratyphus B-Serum inagglutinable und der durch Paratyphus B-Serum hoch agglutinable bei derselben Person gleichzeitig nebeneinander vor: Tabelle III zeigt sämtliche Stämme, die aus dem Blute des Patienten Achmed O. (Fall 3) und später aus den Organen seiner Leiche isoliert wurden.

Die Stämme aus dem Blute (2164, 2179a und b) sind nur durch Glässerserum agglutinabel. Bei der Obduktion wurden aus der Milz (2190/1 und 3), aus der Galle (2190/8) und aus Nierenabszeßeiter (2190/10 und 12a) neben

Tabell

| Stämme | | | Agglutinierend | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Typhus (10 000) | | | Parat. A (4000) | | | | Parat. B | | | |
| Nr. | Namen | Woraus isoliert | 100 | 200 | 400 | 100 | 200 | 400 | 800 | 100 | 200 | 400 | 800 |
| 1266 | Gustav Z. | Blut | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2156 | Emin M. | ,, | ± | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2164 | Achmed O. | ,, | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1633 | Christo J. | ,, | ± | ± | — | + | + | + | — | — | — | — | — |
| 59 | Sali A. | ,, | — | — | — | — | — | — | — | + | ± | ± | ± |
| 119 | Abdulla F. | ,, | — | — | — | ± | ± | — | — | + | + | + | ± |
| 2326 | Mehmed M. | Milz | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1395 | Reinhold R. | Blut | — | — | — | + | + | — | — | + | — | — | — |
| 480 | Otto F. | ,, | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 81 | Sali M. | ,, | ± | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2009 | Mehmed R. | ,, | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 173[b] | Hassan B. | Lunge | — | — | — | + | ± | — | — | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 479 | Mehmed L. | Blut | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1491 | Ramdil Ch. | ,, | — | — | — | ± | ± | — | — | ± | ± | ± | — |
| 275 B | Beiram Abd. | ,, | — | — | — | — | — | — | — | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 1080 | Hermann L. | Urin | — | — | — | — | — | — | — | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Erz. 11 | Dursum J. | Blut | — | — | — | ± | ± | — | — | — | — | — | — |
| 227 | Mehmed A. | ,, | — | — | — | ++ | + | ± | — | ++ | ++ | ++ | + |
| Teststämme | Stamm Glässer (Inst. Rob. Koch) | | +++ | ++ | + | + | ± | ± | ± | ++ | + | + | — |
| | Stamm Parat. B (Inst. Rob. Koch) | | ++ | ++ | + | ++ | + | + | ± | +++ | +++ | +++ | ++ |

Anmerkung: +++ vollständige Ausflockung.
++ starke Ausflockung.
+ Ausflockung makroskopisch noch deutlich sichtbar.
± Ausflockung nur mit der Lupe erkennbar.

rein durch Voldagsenserum agglutinablen Stämmen auch Stämme gezüchtet, die daneben durch Paratyphus B-Serum agglutiniert wurden (2190/4, 2190/7, 2190/12b).

Bei der Erklärung dieser Tatsache mußte zunächst an Mischkultur



[.

| Sera von: | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (2000) | | | Bac. Voldagsen (3200) [und Bac. Erzindjan (3000)] | | | | | | | | | Gefunden bei Fall: |
| 1600 | 3200 | 6400 | 100 | 200 | 400 | 800 | 1600 | 3200 | 6400 | 12 800 | 25 000 | |
| — | — | — | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + | + | — | 1 22. XI. 16 |
| — | — | — | + + + | + + + | + + + | + + | + + | + + | + + | + | + | 2 8. II. 17 |
| — | — | — | + + + | + + + | + + + | + + + | + + | + + | + | — | — | 3 9. II. 17 |
| — | — | — | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + | + + | + | — | 4 22. XII. 16 |
| ± | — | — | + + + | + + + | + + + | + + + | + + | + + | + + | + + | + | 5 5. III. 16 |
| ± | ± | ± | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + | + | — | 6 23. III. 16 |
| — | — | — | + + + | + + + | + + + | + + + | + + | + + | + + | + | + | 7 24. II. 17 |
| — | — | — | + + + | + + + | + + + | + + + | + + | + | + | + | — | 8 1. XII. 16 |
| — | — | — | + + + | + + + | + + | + + | + + | + | — | — | — | 9 11. IX. 16 |
| — | — | — | + + + | + + + | + + + | + + + | + + ± | + + ± | + + | + + | + | 10 13. III. 16 |
| — | — | — | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + | + + | + | ± | 11 26. I. 17 |
| + + | + | — | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + | + | — | 13 3. IV. 16 |
| — | — | — | + + + | + + + | + + | + + | + + | + + | + + | ± | — | 15 12. IX. 16 |
| — | — | — | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + | ± | — | 16 8. XII. 16 |
| + + | + | + | + + + | + + + | + + ± | + + ± | + + | + + | + | + | — | 17 25. VII. 16 |
| + | ± | ± | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + | + + | + | — | 18 13. XI. 16 |
| — | — | — | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + | + + | + | 22 6. IV. 15 |
| + | + | — | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + | + + | ± | 24 9. V. 16 |
| — | — | — | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + ± | + + | + | |
| | | | — | — | — | — | — | — | — | — | — | Voldagsenserum |
| + + + | + + | ± | + + | + | + | + | — | — | — | — | — | Erzindjanserum |

Die Agglutinationen wurden in kleinen Agglutinationsröhrchen vorgenommen und makroskopisch nach 2 und 18—24 Stunden abgelesen. Notiert sind die nach 18—24 Stunden erhaltenen Werte.

gedacht werden, obwohl alle zur Agglutination verwendeten Kulturen von je einer einzelnen Kolonie stammten. Von der Anwendung der Burrischen Einzellkulturen mußte Abstand genommen werden. Wenn ich das sorgfältig ausgeführte Plattenverfahren für ausreichend hielt, um die Frage





**Tabelle**
**Stämme von Achmed O.**

| Nr. | Datum | Woraus isoliert | Methodik | Typhus-serum 100 | Typhus-serum 200 | Typhus-serum 400 | Paratyphus A-Serum 100 | Paratyphus A-Serum 200 | Paratyphus A-Serum 400 | Paratyphus A-Serum 800 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2164 | 9. II. 17 | Blut | Aussaat in Galle | — | — | — | + | ± | — | — |
| 2179 a | 11. II. 17 | „ | Desgl. | — | — | — | + | ± | — | — |
| 2179 b | 11. II. 17 | „ | Blutkuchen in Galle | — | — | — | ± | ± | — | — |
| $2190_1$ | 12. II. 17 | Obd.: Milz | Aussaat in Gallenbouillon | — | — | — | — | — | — | — |
| $2190_2$ | „ | Milz | Aussaat in Galle | — | — | — | + + | + | — | — |
| $2190_2$ A | „ | „ | Tochterkolonie von $2190_2$ | — | — | — | + | ± | — | — |
| $2100_2$ B | „ | „ | Desgl. | — | — | — | + | + | ± | — |
| $2190_2$ C | „ | „ | „ | — | — | — | + + | + | + | — |
| $2190_3$ | „ | „ | Aussaat in Bouillon | — | — | — | — | — | — | — |
| $2190_4$ | „ | „ | Aussaat auf Platte | — | — | — | + + | + | — | — |
| $2190_7$ | „ | Galle | Desgl. | — | — | — | + | + | — | — |
| $2190_8$ | „ | „ | Aussaat in Rindergalle | — | — | — | + | — | — | — |
| $2190_9$ | „ | Mesenterialdrüse | Desgl. | ± | ± | — | + | + | — | — |
| $2190_{10}$ | „ | Nierenabszeß | „ | — | — | — | + + | ± | — | — |
| $2190_{11}$ | „ | Meningealeiter | Aussaat auf Platte | — | — | — | + + | + | ± | — |
| $2190_{12}$ a | „ | Nierenabszeßeiter | Desgl. | — | — | — | + | — | — | |
| $2190_{12}$ b | „ | „ | „ „ | — | — | — | + + | + | — | |

der Mischkultur entscheiden zu können, so kann ich mich auf Sobernheim und Seligmann (9), sowie Baerthlein (10) berufen, die bei ihren ausgedehnten Untersuchungen, bei denen ähnliche Fragen wie hier zu entscheiden waren, das Plattenverfahren völlig ausreichend fanden.

Es wurde demnach nur das Plattenverfahren angewendet: Stamm 2190/2, der besonders hoch durch Paratyphus B-Serum agglutinabel ist, wurde nochmals besonders sorgfältig über die Platte geschickt.

Alle sechs untersuchten Tochterkolonien, von denen drei ($2190_2$ A, B, C) in der Tabelle III enthalten sind, gleichen mit minimaler Abweichung der ursprünglichen Kolonie 2190/2, alle waren durch Paratyphus B-Serum hoch agglutinabel. Es lag somit keine Mischkultur vor, sondern es handelte sich um einen serologisch variierten oder mutierten Stamm.

Auch während einer Erkrankung kann das serologische Verhalten der nacheinander gefundenen Stämme variieren. Dies zeigt die folgende Tabelle IV, die sämtliche bei dem Patienten Emin M. (Fall 2) isolierten Stämme wiedergibt.

Hier fanden sich im Blute innerhalb 8 Tagen agglutinatorisch so verschiedene Stämme wie 2156 und 2200 und ebenso ganz verschiedene Stämme in den Urinen vom 14. II. bis 22. III. Es wurde ein Stamm (2221), der durch Paratyphus B-Serum hoch agglutiniert wurde und der ebenso wie

III.
(Fall 3).

| Paratyphus B-Serum | | | | | | | Bac. Voldagsenserum | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 100 | 200 | 400 | 800 | 1600 | 3200 | 6400 | 100 | 200 | 400 | 800 | 1600 | 3200 | 6400 | 12 800 | 25 000 | 50 000 |
| — | — | — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | + | — |
| — | — | — | — | — | — | — | +++ | +++ | ++ | + | + | + | ± | ± | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | + | ± | — |
| — | — | — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | + | ± | ± | — |
| +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | — | +++ | +++ | +++ | ++ | + | ± | — | — | — | — |
| +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ | ++ | ++ | + | — | — | — | — | — |
| +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | — | — | — | — |
| +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | ± | — | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | + | — | — | — |
| ++ | + | + | + | + | + | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | ± | — |
| ++ | ++ | + | + | + | + | — | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | ± | — | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | ± | — |
| — | — | — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | ± | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — | +++ | +++ | ++ | ++ | + | ± | — | — | — | — |
| ++ | ++ | + | + | + | + | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | ± | ± | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | — | — |
| + | + | + | + | + | ± | — | +++ | ++ | ++ | + | + | + | ± | — | — | — |

alle anderen von einer Einzelkolonie stammte, dem Plattenverfahren unterworfen.

Es ergab sich die Tatsache, daß von acht Tochterkolonien nur eine hochgradig, zwei andere minimal durch Paratyphus B-Serum agglutiniert wurden, die übrigen fünf Kulturen dagegen gar nicht. Hier lag eine Mischkultur vor, allerdings nicht von Bac. Erzindjan und Paratyphus B, sondern eine Mischkultur von mehreren durch Paratyphus B-Serum verschieden hochgradig agglutinablen Variationen des Bac. Erzindjan von einer Mutterkolonie.

Da diese Tochterstämme von einer durch Plattenverfahren isolierten Kolonie stammten, so sind in diesem Falle die nur durch Voldagsenserum agglutinablen Stämme durch Mutation (10) aus dem auch durch Paratyphus B-Serum agglutinablen Mutterstamm hervorgegangen.

Die umgekehrte Erfahrung, daß anfänglich durch Paratyphus B-Serum nicht agglutinable Stämme allmählich etwas agglutiniert werden, haben wir gelegentlich gemacht. Dieser Vorgang ist aber keinesfalls die Regel; so hat sich bei Stamm 81, 119 und 173 B das agglutinatorische Verhalten seit $^3/_4$ Jahren, bei Stamm 11 seit 2 Jahren nicht im geringsten verändert.

Fall Hermann L. (Fall 18) unterscheidet sich dadurch von den beiden



Tabelle

Stämme von Emin M.

| Nr. | Datum 1917 | Woraus isoliert | Methode | Typhus-serum 100 | 200 | 400 | Parat. A-Serum 100 | 200 | 400 | 800 | Paratyph. B- 100 | 200 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2156 | 8. II. | Blut | Aussaat in Gallenbouillon | ± | ± | — | — | — | — | — | — | — |
| 2156 | 8. II. | „ | Desgl. | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2181 | 11. II. | „ | „ | — | — | — | + | ± | ± | | ± | — |
| 2181 | 11. II. | „ | „ | — | — | — | — | — | — | | + | + |
| 2204 | 14. II. | Urin | Anreicherung in Gallenbouillon | — | — | — | + | ± | — | | — | — |
| 2220 | 15. II. | Blut | Aussaat in Gallenbouillon | ± | ± | — | + + | + + | + | | + + | + — |
| 2220 | „ | „ | Desgl. | — | — | — | — | — | — | | + + | + + |
| 2221 | 15. II. | Urin | Anreicherung in Gallenbouillon | ± | — | — | + + | + + | + | | + + | + + |
| 2221 A | „ | „ | Tochterkolonie von 2221 | — | — | — | ± | — | — | | — | — |
| 2221 B | „ | „ | Desgl. | — | — | — | ± | — | — | | — | — |
| 2221 C | „ | „ | „ | ± | — | — | + + | + | ± | — | ± | — |
| 2221 D | „ | „ | „ | — | — | — | + + | + | ± | — | — | — |
| 2221 E | „ | „ | „ | — | — | — | + + | + | + | — | — | — |
| 2221 F | „ | „ | „ | ± | ± | — | + | + | + | — | ± | — |
| 2221 G | „ | „ | „ | — | — | — | — | — | — | — | + + | + + |
| 2221 H | „ | „ | „ | — | — | — | — | — | — | | — | — |
| 2234 | 16. II. | „ | Anreich. in Bouillon u. Galle āā | — | — | — | — | — | — | | + + + | + + + |
| 2234 | „ | „ | Desgl. | — | — | — | — | — | — | | + | + |
| 2247 | 17. II. | „ | „ | — | — | — | + | ± | — | | + + + | + + + |
| 2216 | 24. II. | „ | „ | — | — | — | — | — | — | | + + | — |
| 2275 | 14. III. | „ | „ | — | — | — | — | — | — | | + + + | + — |
| 2369 | 1. III. | „ | „ | — | — | — | + | + | ± | | + + + | + + + |
| 2369 | „ | „ | „ | — | — | — | — | — | — | | + + | + + |
| 2377 | 2. III. | „ | „ | — | — | — | + | + | ± | | + + + | + + — |
| 2411 | 5. III. | „ | „ | — | — | — | + + ± | + + | + | | + + + | + + — |
| 2423 | 6. III. | „ | „ | — | — | — | + + | + | ± | | — | — |
| 2442 | 8. III. | „ | „ | — | — | — | — | — | — | | + + + | + + — |
| 2465 | 12. III. | „ | „ | — | — | — | — | — | — | | + + + | + + — |
| | 22. III. | „ | „ | — | — | — | — | — | — | | ± | — |
| 2509 | 1. IV. | „ | „ | — | — | — | — | — | — | | + + + | + + |
| 2509 a | 16. IV. | Kaninchen-milz | 2509 nach Tierpassage | — | — | — | — | — | — | | — | — |
| 2509 b | 16. IV. | Kaninchen-niere | Desgl. | — | — | — | — | — | — | | ± | ± |

IV.
(Fall 2).

| Serum 400 | 800 | 1600 | 3200 | 6400 | Bac. Voldagsen-Serum 100 | 200 | 400 | 800 | 1600 | 3200 | 6400 | 12 800 | 25 000 | Datum d. Agglutination 1917 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | + | ± | 11. II. |
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | ++± | ++ | + | + | — | — | — | 14. III. |
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | ± | — | 14. II. |
| + | + | ± | — | — | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ± | — | 14. III. |
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | ++ | ++ | + | + | + | + | — | 16. II. |
| ++ | ++ | + | + | + | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | + | + | ± | 18. II. |
| ++ | + | + | ± | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | ± | — | — | 14. III. |
| ++ | ++ | + | + | + | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | + | + | — | 18. II. |
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | ± | 22. II. |
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | 22. II. |
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | ± | — | 10. III. |
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ± | — | — | 10. III. |
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | — | — | 10. III. |
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | — | — | 10. III. |
| ++ | ++ | + | + | + | +++ | ++ | ++ | ++ | + | + | + | — | — | 15. III. |
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + | — | 15. III. |
| +++ | ++ | + | + | + | +++ | +++ | ++ | + | + | — | — | — | — | 19. II. |
| + | + | ± | — | — | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | — | — | — | 14. III. |
| ++ | ++ | ++ | + | ± | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ± | — | — | — | 17. II. |
| — | + | + | ± | — | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ± | — | — | — | 14. III. |
| ++ | + | + | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ± | — | — | 14. III. |
| +++ | +++ | ++ | ± | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | — | — | 1. III. |
| ++ | ++ | + | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | — | — | 14. III. |
| +++ | +++ | ++ | + | — | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | — | — | — | 5. III. |
| +++ | ++ | + | ± | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | ± | — | 8. III. |
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ± | — | 9. III. |
| +++ | ++ | + | — | — | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | — | — | 11. III. |
| +++ | +++ | ++ | + | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | — | — | — | 15. III. |
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | 25. III. |
| ++ | ++ | ++ | + | ± | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++± | ++ | + | 16. IV. |
| — | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | — | — | — | 19. IV. |
| ± | — | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | — | — | 19. IV. |

Tabelle
**Stämme von Hermann L.**

| Nr. | Datum 1916 | Woraus isoliert | Typhus-serum 100 | 200 | 400 | Paratyphus A-Serum 100 | 200 | 400 | 800 | Paratyphus B- 100 | 200 | 400 | 800 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1080 | 13. XI. | Urin | — | — | — | — | — | — | — | ++ | ++ | ++ | +± |
| 1080 A | „ | Tochterkolonie von 1080 | — | — | — | ++ | ± | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 1080 B | „ | Desgl. | — | — | — | +++ | +± | ± | | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 1080 C | „ | „ | — | — | — | ++ | + | — | | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 1080 D | „ | „ | ± | — | — | ++ | + | — | | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 1080 E | „ | „ | + | ± | — | ++ | ++ | + | + | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 1080 F | „ | „ | + | ± | — | ++ | ++ | + | + | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 1472 | 7. XII. | Urin | — | — | — | — | — | — | — | +++ | +++ | ++ | ++ |
| 1509 | 10. XII. | „ | + | ± | — | ++ | ± | ± | | + | + | + | + |
| 1230 | 20. XI. | „ | — | — | — | — | — | — | — | ++ | + | + | + |
| $1230_1$ | | Tochterkolonie von 1230 | + | ± | — | — | — | — | — | ++ | ++ | ++ | ++ |
| $1230_2$ | | Desgl. | + | + | — | + | + | ± | — | ++ | ++ | ++ | +± |
| $1230_3$ | | „ | — | — | — | — | — | | | ++ | ++ | ++ | ++ |

anderen, daß fast alle bei ihm gefundenen Stämme von Anfang an durch Paratyphus B-Serum hoch agglutinabel waren, oft höher als durch Glässer-Voldagsenserum. Hier fand sich unter sechs Tochterkolonien der Kultur 1080 keine, die nicht durch Paratyphus-B-Serum agglutiniert worden wäre. Immerhin war auch bei diesem Patienten ein Stamm im Urin (1509), der durch Paratyphus B-Serum nur ganz schwach agglutiniert wurde (Tabelle V).

Überblicken wir die bisherigen Tabellen, so ergibt sich, daß auf der Höhe der Erkrankung im Blute in der Regel Stämme gefunden wurden, die nur durch Glässer-Voldagsenserum, nicht aber durch Paratyphus B-Serum agglutiniert werden. Bei Ausscheidung durch den Urin und ebenso in Leichenorganen, auch in späteren Stadien der Erkrankung im Blute, fanden sich neben solchen auch Stämme, die auch durch Paratyphus B-Serum agglutinabel sind. Wie das Beispiel des Falles 2, Tabelle IV, Stamm 2221 zeigt, können diese Varianten offenbar auch in der Kultur durch Mutation oder Variation nebeneinander entstehen.

Tabelle IV gibt einige Beispiele von Agglutination desselben Stammes (jedesmal einer 24stündigen Kultur) nach einmonatlicher Aufbewahrung auf Schrägagar (2181, 2220, 2234, 2369). Stamm 2181, der am 13. II. durch Paratyphus B-Serum 100 + agglutiniert wurde, wurde es am 14. III.



...
...Fall 18).

| ...Serum | | | Bac. Voldagsenserum | | | | | | | | | Datum der Agglutination 1917 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1600 | 3200 | 6400 | 100 | 200 | 400 | 800 | 1600 | 3200 | 6400 | 12 800 | 25 000 | |
| + | ± | ± | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | + | 23. I. |
| ++ | ++ | | +++ | +++ | +++ | ++ | + | — | — | — | — | 22. II. |
| ++ | + | — | +++ | +++ | +++ | ++ | + | — | — | — | — | 7. III. |
| +++ | ++ | + | +++ | +++ | ++ | + | + | ± | — | — | — | " |
| ++ | + | — | +++ | +++ | ++ | + | ± | — | — | — | — | " |
| ++ | ± | — | +++ | +++ | +± | + | ± | ± | — | — | — | " |
| +++ | ++ | + | +++ | +++ | ++ | + | + | — | — | — | — | " |
| ++ | + | + | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | + | ± | 23. I. |
| — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | + | 25. I. |
| ± | ± | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | ± | 16. III. |
| + | + | — | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | — | 1. IV. |
| +± | + | ± | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++± | ++± | ++ | " |
| ++ | + | + | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++± | ++ | + | " |

bis 800 +, 1600 ±. Umgekehrt war bei 2234 die Agglutinabilität für Paratyphus B-Serum nach 1 Monat deutlich heruntergegangen.

Der Umschlag aus der einen Variante in die andere scheint am leichtesten im menschlichen oder Tierkörper vor sich zu gehen. Außer den in Tabelle II bis IV niedergelegten Befunden am Menschen geht das aus dem folgenden Versuch hervor (Tabelle IV unten).

Der am 1. IV. aus dem Urin des Emin M. (Fall 2) isolierte Stamm 2509 wurde dem Plattenverfahren unterworfen. Eine gut isolierte Kolonie wurde auf Schrägagar überimpft. Die Kultur hatte die in der Tabelle verzeichneten agglutinatorischen Eigenschaften, d. h. sie war durch Paratyphus B-Serum hochgradig agglutinabel. Mit derselben Schrägagarkultur wurde ein Kaninchen infiziert. Aus der Milz und Niere des verendeten Tieres wuchsen Kolonien von einem schwach oder gar nicht durch Paratyphus B-Serum agglutinablen Typus!

Es wurde auch versucht, festzustellen, ob die beiden Varietäten des Bac. Erzindjan verschiedene Virulenz besitzen, und zwei Kaninchen desselben Wurfes je $^1/_{10}$ Öse zweier vom selben Patienten gezüchteten Stämme, nämlich von Stamm 2411 (durch Paratyphus B-Serum agglutinabel) und 2423 (durch Paratyphus B-Serum nicht agglutinabel) intravenös injiziert. Beide Tiere starben fast gleichzeitig nach etwa 40 Stunden. Die Obduktion



ergab bei beiden Milzschwellung und subseröse Blutungen am Pankreas, Duodenum und den Pleuren. Die aus den verendeten Tieren gezüchteten Bazillen hatten in diesem Falle ihre spezifische serologische Eigenschaft gegenüber Glässer- und Paratyphus B-Serum behalten.

Was das Verhalten meiner Stämme gegenüber anderen agglutinierenden Sera betrifft, so ist folgendes zu sagen: Typhusserum agglutiniert sie im Gegensatz zu europäischen Voldagsenstämmen nicht, Paratyphus A-Serum, wie aus den Tabellen hervorgeht, meist dann etwas mehr, wenn der betreffende Stamm für Paratyphus B-Serum inagglutinabel ist. Gärtnerserum agglutiniert keinen meiner Stämme. Außer dem Glässerserum des Instituts „Robert Koch" und unserem eigenen Erzindjanserum agglutiniert sie ferner, wie einige Stichproben erweisen, bis zur Titergrenze: Glässerserum (Kaiserl. Gesundheitsamt), Voldagsenserum (Kaiserl. Gesundheitsamt) und Amerikaserum (Kaiserl. Gesundheitsamt). Das Verhalten zu Pestiferserum bedarf noch der Prüfung.

Nach alledem wird man den Bac. Erzindjan als Paratyphus B-Stamm vom Typus Voldagsen bezeichnen müssen, ebenso wie Bernhardt das mit seinen Stämmen tat.

Was die Pathogenität betrifft, so ergibt sich eine merkwürdige Parallele zwischen den bei Schweinen gefundenen Bazillen der Sui pestifer- und Voldagsengruppe und den Erzindjanbazillen: Pestifer- und Voldagsenbazillen sind nach der jetzigen Auffassung nicht die Erreger der Schweinepest, wohl aber befallen sie bereits an Viruspest erkrankte Schweine mit besonderer Vorliebe. Sieht man meine Krankengeschichten durch, so zeigt sich, daß auch der Bac. Erzindjan gern Patienten befällt, die bereits an einem anderen Leiden erkrankt sind, wir finden unter 27 Fällen dreimal Recurrens, zweimal Malaria (einmal Tropica, einmal Tertiana), einmal Fleckfieber der Erkrankung durch Bac. Voldagsen unmittelbar vorausgehend. Bei den sieben dysenterischen Fällen sind sie wahrscheinlich die Erreger, doch bleibt immerhin die Möglichkeit offen, daß ein in unserem Falle unbekannter Erreger die Ruhr verursachte, deren Erscheinungen wiederum dem Bac. Erzindjan den Eintritt in die Blutbahn eröffneten.

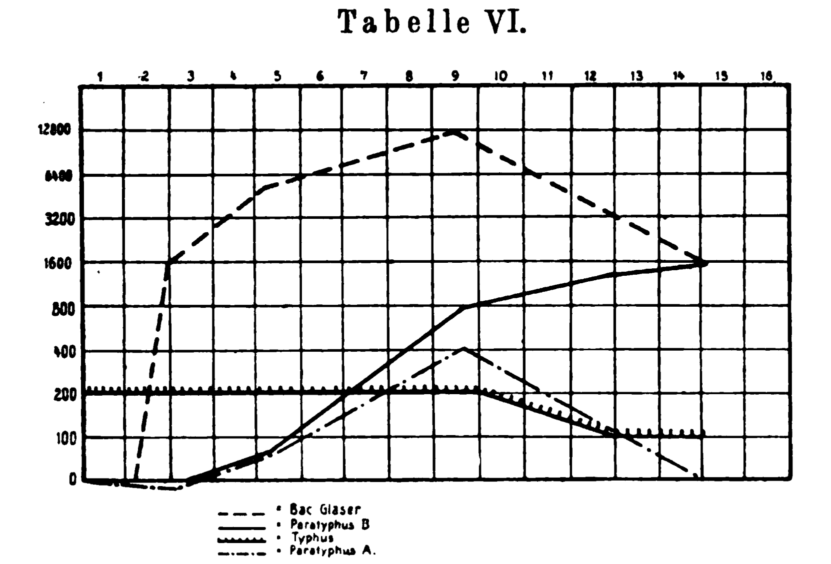
Die agglutinogene Wirkung der Erkrankung auf den menschlichen Organismus zeigt die von Gustav Z. (Fall 1) stammende Kurve (Tab. VI).

Patient Z. war gegen Typhus abdominalis geimpft. Der Titer von 200 für Typhus hielt sich während der 15 Beobachtungswochen auf fast gleicher Höhe. Der Titer seines Serums für Bac. Glässer erreichte nach schnellem Anstieg in der zweiten Krankheitswoche den Wert 1600, in der neunten Krankheitswoche 12800, um nach 15 Wochen wieder auf



1600 abzusinken. Der Titer für Paratyphus A stieg entsprechend der Voldagsenkurve etwas mit an, um nach 15 Wochen bei 0 anzulangen.

Tabelle VI.




Anders die Paratyphus B-Kurve. Sie setzte ihren späten Anstieg ununterbrochen fort und erreichte nach 15 Wochen mit 1600 die Glässerkurve. Bemerkenswert ist, daß keiner der bei Patient Z. gezüchteten Stämme bei der Isolierung durch Paratyphus B-Serum agglutinabel war. Einige wurden es nach monatelanger Aufbewahrung in der Kultur in geringem Maße.

Ganz ebenso verhielt sich Emin M. (Tabelle VII):

Hier steigt der Titer für Bac. Glässer (und ebenso Bac. Erzindjan) zwischen dem 18. und 24. II. (siehe Temperaturkurve 2) auf 6400, am 26. II. bis 12800. Seit dem 5. III. ist der Titer unverändert 3200. Am 5. III. beginnen auch hier Paratyphus-B-Agglutinine aufzutreten. Am 18. III. ist auch für diese der Titer 3200 erreicht. Um sicher zu gehen, haben wir die Sera verschiedenen Datums des Patienten Emin M., soweit sie unseren aus dem Institut „Robert Koch" stammenden Paratyphus B-Stamm agglutinierten, auch auf drei andere Paratyphus B-Stämme (Paratyphus B-Kiel und zwei in Konstantinopel gezüchtete Paratyphus B-Stämme) einwirken lassen. Die Unterschiede gegenüber dem Berliner Paratyphus B-Stamm waren, da nur quantitativ, bedeutungslos.

Die anfänglich vorhandenen geringen Titerwerte für Typhus und Paratyphus A sinken bis 18. II. auf 0 ab. Ganz geringe Ausflockungen für beide werden erst im Augenblick des starken Anstiegs der Paratyphus B-Kurve wieder bemerkbar.

Tabelle VII.

Das Serum von Emin M. (Fall 2) agglutinierte:

| Nr. | Datum 1917 | Typhus-serum 100 | 200 | 400 | Parat. A-Serum 100 | 200 | 400 | 800 | Paratyphus B-Serum 100 | 200 | 400 | 800 | 1600 | 3200 | 6400 | Bac. Erzindjanserum 100 | 200 | 400 | 800 | 1600 | 3200 | 6400 | 12 800 | Proteus X 19 (Weil-Felix) 25 | 50 | 100 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2181 | 11. II. | + | ± | ± | + | ± | — | | — | — | — | | | | | — | — | — | | | | | | ++ | ++ | + |
| 2220 | 15. II. | ± | ± | — | + | ± | — | | — | — | — | | | | | — | — | — | | | | | | + | + | — |
| 2256 | 18. II. | ± | — | — | ± | — | — | | — | — | — | | | | | + | — | — | | | | | | + | + | — |
| 2313 | 24. II. | — | — | — | — | — | — | | — | — | — | | | | | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | + | — | + | — | — |
| 2333 | 26. II. | — | — | — | — | — | — | | — | — | — | | | | | +++ | +++ | ++± | ++± | ++ | ++ | ++ | + | — | — | — |
| 2418 | 5. III. | — | — | — | — | — | — | | ± | — | — | | | | | +++ | +++ | +++ | ++ | + | + | — | — | — | — | — |
| 2469 | 12. III. | + | — | — | ± | — | — | | ++ | ++ | + | — | — | — | | +++ | +++ | +++ | ++ | + | + | — | — | — | — | — |
| 2544 | 18. III. | + | ± | — | ± | — | — | | +++ | +++ | +++ | ++ | + | + | — | +++ | +++ | +++ | ++ | + | + | — | — | — | — | — |
| | 27. III. | + | — | — | — | — | — | | +++ | +++ | +++ | +± | + | + | — | +++ | +++ | +++ | ++ | + | + | — | — | — | — | — |
| | 3. IV. | + | — | — | — | — | — | | +++ | +++ | +++ | ++ | + | + | — | +++ | +++ | +++ | ++ | + | + | — | — | — | — | — |
| | 10. IV. | ± | — | — | — | — | — | | +++ | ++ | ++ | + | — | — | — | +++ | +++ | +++ | ++ | + | ± | — | — | — | — | — |
| | 17. IV. | ± | — | — | — | — | — | | ++ | ++ | + | ± | — | — | — | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | — | — | — | — | — |
| 3242 | 10. V. | — | — | — | — | — | — | | — | — | — | | | | | ++ | + | + | — | — | — | | | — | — | — |

Tabelle VIII.

| Stamm-Nr. | Name des Patienten | Wurde agglutiniert durch Paratyphus B-Serum 100 | 200 | 400 | 800 | 1600 | 3200 | 6400 | Durch Glässer-serum bis | Nr. des mit dies. Stamm geimpften Kaninchens | Das Serum des mit dem betr. Stamm 3 mal geimpften Kaninchens agglutinierte Parat. B: 100 | 200 | 400 | 800 | 1600 | 3200 | 6400 | 12 800 | 25 000 | Bac. Erz-indjan bis |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1266 | Gustav Z. | — | — | — | — | — | — | — | 6400 | 1 | ++ | + | + | + | — | — | — | — | — | 6400 |
| $2190_{12a}$ | Achmed O. | — | — | — | — | — | — | — | 6400 | 2 | +++ | +++ | +++ | +++ | + | — | — | — | — | 3200 |
| $2190_2$ | „ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | ± | — | 12800 | 3 | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | + | ± | ± | — | 3200 |
| $2508_2$ | Emin Mustafa | — | — | — | — | — | — | — | 6400 | 4 | ++ | + | + | + | + | — | — | — | — | 12800 |
| 11 | Drusum Ibr. | — | — | — | — | — | — | — | 12800 | 5 | + | — | — | — | — | — | — | — | — | 3200 |
| 2221 B | Emin M. | — | — | — | — | — | — | — | 12800 | 6 | ++ | ++ | +± | — | — | — | — | — | — | 3200 |
| 1392 | Gustav Z. | — | — | — | — | — | — | — | 6400 | 7 | + | + | + | ± | — | — | — | — | — | 3200 |

Die in schnellem Zuge auf 0 abfallende Kurve für Proteus X 19 bleibt von dem Anstieg der Glässer- und Paratyphus B-Kurven völlig unberührt. Seit 26. II. ist die Weil-Felixsche Reaktion dauernd bei Verdünnung 1:25 = 0.

Es mag nebenbei auf die Wichtigkeit dieser Beobachtung für die Weil-Felixsche Reaktion hingewiesen werden. Während niedrige Agglutinationswerte eines Stammes für Typhus bei ausbrechendem Fleckfieber eine oft enorme Erhöhung erfahren (11), die vielfach zu falschen Deutungen geführt hat, scheint umgekehrt eine ablaufende Weil-Felix-Kurve durch ausbrechende Infektion mit Typhus- oder Paratyphusbazillen nicht in ihrem Absinken beeinflußt zu werden.

Die Deutung der Erscheinung des späteren Anstieges der Paratyphus B-Kurve scheint für Patient Emin M. ziemlich leicht. Der Patient war bis 1. IV. Bazillenausscheider. Die Bakterien, die er ausschied, waren im Gegensatz zu den ursprünglich in seinem Blute nachgewiesenen z. T. auch durch Paratyphus B-Serum hoch agglutinabel. Ihre agglutinogene Wirkung im Sinne einer Bildung von Paratyphus B-Agglutininen scheint demnach verständlich.

Anders Gustav Z. (Fall 1). Bei diesem Patienten entsprachen alle sieben aus Blut, Urin und Stuhl gezüchteten Stämme im wesentlichen dem in der Übersichtstabelle angegebenen Stamm 1266. Keiner wurde durch Paratyphus B-Serum höher als $^1/_{100}$ agglutiniert.

Man wird annehmen, daß bei genügend langer Einwirkung von Bac. Erzindjan ihm und dem Paratyphus B gemeinsame agglutinogene Gruppen zur Wirkung kommen. Dieser Frage wurde im Tierversuch nachgegangen: Im ganzen wurden sieben Kaninchen subkutan mit steigenden Dosen von abgetöteten Bazillen gespritzt (2, 5, 10 ccm einer in 10 ccm abgeschwemmten Schrägagarkultur).

Tabelle VIII zeigt das Verhalten der zur Impfung verwendeten Stämme, daneben den Titer des gewonnenen Serums für Paratyphus B.

Es zeigt sich, daß geringe Titer für Paratyphus B immer auftreten, auch wenn der verwendete Stamm für Paratyphus B-Serum gar nicht agglutinabel war. Das reinste Voldagsen- oder Erzindjanserum wurde erzielt mit dem schon seit 2 Jahren aufbewahrten, aus Erzindjan mitgebrachten Stamm 11. Von Achmed O. (Fall 3) wurden zwei Stämme zur Herstellung von agglutinierendem Serum verwendet. Trotzdem 12a durch Paratyphus B-Serum gar nicht agglutinabel war, agglutinierte das mit ihm gespritzte Tier Nr. 2 Paratyphus B kaum weniger, als das Tier Nr. 3, welches mit der durch Paratyphus B-Serum hoch agglutinablen Varietät gespritzt war.



Somit spricht der Tierversuch, wie nach den klinischen Resultaten zu erwarten war, dafür, daß Bac. Erzindjan auch in seiner durch Paratyphus B-Serum nicht agglutinablen Varietät leicht Paratyphus B-Agglutinine hervorruft.

Immunisierungsversuche an Menschen habe ich in zweifacher Weise angestellt. Bei 56° abgetötete Kulturen unserer Stämme wurden allein und gemeinsam mit Paratyphus A und Typhus injiziert. Besondere Unannehmlichkeiten im Vergleich zur Typhusimpfung treten nicht auf, doch erfordert die Dosierung besonders bei der polyvalenten Impfung noch weitere Versuche. Es scheint, als ob sich gute Titerwerte gleichzeitig für Typhus, Paratyphus A, Paratyphus Glässer-Voldagsen und B auf diese Weise erzielen lassen.

---

Überblicken wir die bakteriologischen Resultate, so läßt sich sagen, daß wir einen Paratyphus B-Stamm vom Typus Glässer-Voldagsen vor uns haben. Mehr noch als früheren Untersuchern, die sich mit dieser Gruppe befaßt haben, wurde unsere Arbeit erschwert durch die hochgradige Variabilität der Stämme. Paratyphus Erzindjan macht nicht nur in der Kultur Variationen oder Mutationen durch, auch im Körper variiert sein Verhalten, so daß zu verschiedenen Zeiten aus einem Menschen oder sogar bei verschiedenen Aussaaten aus einem Leichenorgan serologisch unterscheidbare Varianten wachsen können.

Im Gegensatz zu den bei Tieren gefundenen Erregern der Voldagsengruppe sind unsere Stämme jedoch wenigstens in ihren kulturellen Eigenschaften offenbar konstant. Soweit wir bei den uns zur Verfügung stehenden Nährböden feststellen konnten, sind sie sämtlich in ihrem chemischen und morphologischen Verhalten unveränderlich beim Typus des Paratyphus B geblieben, wie sie ihn vom Tage der Isolierung an gezeigt haben. Das serologische Verhalten ist gegenüber Glässerserum ganz konstant, sehr wandelbar nur gegenüber Paratyphus B-Serum.

Den Vorschlag Bernhardts, die Paratyphus B-Sera polyvalent auch für Glässer-Voldagsen-Bazillen herzustellen, kann ich vom klinischen Standpunkt nicht billigen. Das klinische Bild des Paratyphus Erzindjan ist außerordentlich verschieden vom Paratyphus A und B durch seine eminente Schwere. Es erscheint daher wesentlich, die Erreger dieser Gruppe, die das Bact. typhi an Virulenz noch übertreffen, vom Paratyphus B gut zu unterscheiden. Es ist nötig, Maßregeln zu treffen, um die Einschleppung des gefährlichen Erregers zu verhindern. Und dazu müssen möglichst spezifisch agglutinierende Sera angewendet werden.



Daß der Bacillus so variabel ist, daß seine Abgrenzung vom relativ harmlosen Paratyphus B manchmal Schwierigkeiten macht, ist bedauerlich, darf aber angesichts der hochgradigen Menschenpathogenität nicht davon abhalten, den gefährlichen Erreger genau zu beobachten und von anderen Paratyphusbazillen zu unterscheiden.

Überblicken wir die Daten unserer Fälle, berücksichtigen wir, daß wir in nur selten ganz abreißender Kette Infektionen durch Bac. Erzindjan oder mit anderen Worten durch menschenpathogene Paratyphus B-Bazillen der Voldagsengruppe in Ostanatolien, dann in Konstantinopel, schließlich auch bei deutschen Soldaten gefunden haben, so müssen wir zur Auffassung kommen, daß der Bacillus ein in Kleinasien sehr verbreiteter Erreger menschlicher Allgemeininfektionen ist. Die Beobachtung rückt erst dann ins rechte Licht, wenn man erwägt, daß unter 4000 Patienten unseres Lazaretts uns neben 49 Fällen von Paratyphus Erzindjan nur drei Fälle von echtem Typhus abdominalis, zwei Fälle von Allgemeininfektion durch Paratyphus B und 15 Paratyphus-A-Fälle begegnet sind, unter denen sich aber neben 14 deutschen Soldaten nur ein Türke befand. Von allen diesen Typhus-, Paratyphus B- und A-Fällen haben wir keinen einzigen durch Tod verloren, von den typhös-septischen Erkrankungen an Paratyphus Erzindjan dagegen 44 Prozent, von den dysenterischen Fällen noch wesentlich mehr (unter den hier dargestellten 6 von 7).

Das Auftreten von Fällen in Konstantinopel braucht nicht wunderzunehmen. Bei dem enormen Zustrom anatolischer Soldaten nach Konstantinopel, der besonders während des Dardanellenfeldzuges stattfand, ist die Verschleppung der Erreger aus dem Innern erklärlich. Ob der Bac. Erzindjan in Ostanatolien zu Hause ist und seit wann, ist nicht zu entscheiden, da die dortige Gegend bisher nicht bakteriologisch durchforscht worden ist. An seine Ubiquität im Innern Kleinasiens ist nach unseren Erfahrungen nicht zu denken: Bei 3500 Blut-, Stuhl- und Urinuntersuchungen bei Leuten, die an den verschiedensten Krankheiten litten, ist uns der Bacillus nie als zufälliger Befund begegnet.

Die Infektionsquellen zu finden, war uns nicht möglich, Das Schwein, bei dem Voldagsenbazillen häufig gefunden werden, kommt nicht dafür in Frage, da die Mohammedaner in Anatolien nirgends Schweine züchten.

Die Fälle traten in Erzindjan bei so verschiedenen Truppenteilen auf, daß an eine einheitliche Infektionsquelle kaum zu denken war. Die Fälle in Konstantinopel zogen sich als fast ununterbrochene dünne Kette durch unsere ganze bisherige Tätigkeit. Die Frage nach der Her-

kunft des Erregers muß demnach einstweilen offen bleiben. Auch über die Art der Übertragung läßt sich noch nichts aussagen, doch ist die Ansteckung von Mensch zu Mensch sehr wahrscheinlieh, um so mehr, als Bazillenausscheidung durch den Urin offenbar häufig ist.

## Zusammenfassung.

1. Ein in Anatolien vorkommender Bacillus der Glässer-Voldagsen-Gruppe (Bac. Erzindjan) verursacht menschliche Allgemeininfektionen.

2. Diese Allgemeininfektionen haben entweder typhös-septischen oder dysenterischen Charakter.

3. Die Mortalität beträgt etwa 50 Prozent.

4. Die Bakterien sind serologisch nahe Verwandte des Paratyphus B, werden aber konstant nur durch Glässer-Voldagsen- oder homologes Serum agglutiniert.

5. Bei einem und demselben Patienten werden häufig serologisch verschiedene Varianten nebeneinander gefunden.

Den Herren Chefarzt Dr. Zlocisti und Dr. Wagenseil sage ich an dieser Stelle meinen Dank für Überlassung mehrerer Krankengeschichten, meinen bakteriologischen Gehilfen Freiwilligem Helfer stud. phil. Kreuscher und Schwester Emmi Mestwerdt danke ich für ihre aufopfernde Mitarbeit.



## Literaturverzeichnis.


1. Neukirch, Über Paratyphusbakterien im Blute bei Ruhrerkrankungen in der Türkei. *Berlin. klin. Wochenschr.* 1917. Nr. 15.

2. O. Heller, Untersuchungen bei einer Fleischvergiftungsepidemie. *Centr. f. Bakteriologie.* Abt. I. Bd. XLIII. S. 146.

3. Dammann und Stedefeder, Untersuchungen über die Schweinepest. *Archiv für Tierheilkunde.* 1910. Nr. 36.

4. Haendel und Gildemeister, Über die Beziehungen des Bac. Voldagsen zur Schweinepest. *Centr. f. Bakteriologie.* Bd. L. S. 137. u. Bd. LIV. S. 78 (Ergänzungsbände).

5. Glässer, Studie über die Ätiologie der deutschen Schweinepest. *Deutsche tierärztl. Wochenschr.* 1907 u. 1908. *Berliner tierärztl. Wochenschr.* 1909 u. 1910.

6. Uhlenhuth, Experimentelle Untersuchungen über die Schweinepest. *Centr. f. Bakteriologie.* 1912. Bd. LXIV. S. 151.

7. G. Bernhardt, Beitrag zur Frage der Fleischvergiftungserreger. *Diese Zeitschrift.* Bd. LXXIII. 1913. S. 65.

8. Neumark, Zum Nachweis des Bac. Voldagsen beim Menschen. *Berl. klin. Wochenschr.* 1912. S. 2381.

9. Sobernheim und Seligmann, Beiträge zur Biologie der Enteritisbakterien. *Zeitschr. f. Imm. u. exp. Ther.* Bd. VI. S. 401.

10. Baerthlein, *Centr. f. Bakteriologie.* Beiheft zu Bd. L u. LIV. 1911. S. 133. *Berl. klin. Wochenschr.* 1911. Nr. 9 u. 31.

11. Weil und Felix, Über Beziehungen der Gruber-Widalschen Reaktion zum Fleckfieber. *Wiener klin. Wochenschr.* 1916. Nr. 31.

12. Kolle-Wassermann, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.* Bd. III. Uhlenhuth und Hübener, *Paratyphus.* Bd. VI. Uhlenhuth und Haendel, *Schweinepest.*


---

### Erklärung zu den Fieberkurven.

B + = Im Blut Bacillus Erzindjan gefunden.<br>
U + = „ Urin „ „ „<br>
St + = „ Stuhl „ „ „<br>
W 800 = Widalsche Reaktion für Bac. Erzindjan 1 : 800 +.<br>
D − = Diazoreaktion negativ.<br>
Sp + = Rekurrensspirillen gefunden.<br>
M − = Malariaplasmodien nicht gefunden.<br>
WF + = Weil-Felixsche Reaktion positiv.

Die unten verzeichneten Striche geben die Zahl der Stuhlgänge an, und zwar | = festen Stuhl, / = breiigen Stuhl und — = flüssigen Stuhl.







[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig.]

# Wärmeleitung keramischer Materialien.

Von

Dr. **Tschaplowitz**.

Bei schlechten Wärmeleitern — Halbleitern — ist es schwierig, bei Formsteinen keramischer Materialien aber unmöglich, Wärmeleitungskoeffizienten mit gleicher Sicherheit wie bei guten Leitern zu bestimmen. Es geht das schon aus den vielen in weiten Grenzen — zwischen 0·0005 und 0·0035 Kalorien — schwankenden, für die Konstante $k$ in der Literatur angegebenen Werten hervor. Die Schwierigkeiten beruhen nicht nur darin, daß wir keinen vollkommen wärmedichten Stoff besitzen, um Körper bis auf zwei gegenüberstehende Flächen einhüllen zu können, und es bei porösen Körpern ausgeschlossen ist, Untersuchungen im luftleeren Raum anzustellen, sondern (außer anderem) auch darin, daß aus gleichem Grunde jede vollkommen dichte Berührung mit einem Kalorimeter wie mit anderen festen Körpern überhaupt ausgeschlossen ist. Endlich ist es schwierig, gleichmäßig fließende Wärmequellen herzustellen; die indirekten Methoden aber tragen die Unsicherheiten aller indirekten Verfahren.

Der Wärmeleitungskoeffizient $k$ speziell der Tonmaterialien ist in der letzten Zeit mehrfach Gegenstand ausführlicher Untersuchungen gewesen. Die „Tonindustriezeitung" berichtet in den Jahrgängen 1909 bis 1915 allein über sieben zum Teil mit vielen Unkosten ausgeführten Experimentaluntersuchungen. Es werden folgende Werte angegeben: Osann fand in feuerfesten Steinen eines Winderhitzers $k$ gleich 0·0005 bis 0·0020; Wologdin fand bei „roten Tonziegeln" 0·0033 bis 0·003; Clement und Egy in „feuerfesten Ziegelsteinen" 0·00209 bis 0·00259; Gröber in „Münchener Hand- und Maschinenziegeln" 0·006; Goerens bei Schamotte 0·091; Poensgen in Ziegeln 0·24 bis 0·47 und in Ziegelmauern 0·28 bis 0·35; Heyn, Bauer und Wetzel in „feuerfesten Baustoffen" 0·0009 bis 0·0027.



Die zuletzt angeführten Forscher haben besonders umfängliche Untersuchungen an sieben verschiedenen Steinarten angestellt und in einem ausführlichen, auch die verschiedenen Methoden kritisch beleuchtenden Bericht veröffentlicht.[1]

Aus den Untersuchungen insgesamt geht hervor, daß die Porosität, das spezifische Gewicht, Volumengewicht, Wärmekapazität, Höhe der Brenntemperatur, wie auch der Untersuchungstemperatur, endlich die Art der chemischen Bestandteile der Steine auf diese Konstante Einfluß nehmen. Von älteren Untersuchungen sei verwiesen auf Kerl (Cramer und Hecht) „Tonindustrie", in welchem Werke sich folgende interessante Zahlen finden:

| | |
|---|---|
| Gold . . . . . . . . . . . . . . . | 10000 |
| Porzellan . . . . . . . . . . . . . | 12·2 |
| Ofenkacheln . . . . . . . . . . . | 11·4 |
| Marmor . . . . . . . . . . . . . | 23·6 |
| Weißer Marmor (nach Hecht) . . | 0·0027 |
| Basalt . . . . . . . . . . . . . . | 0·0052 |

Angegeben ist daselbst: die Wärmeleitfähigkeit steht im direkten Verhältnis zur Dichtigkeit. Gegenstände mit erdigem Bruch leiten die Wärme weniger als solche mit glasigem Bruch. In Börnsteins Tabellen findet sich bei Ton unter 360 bis 750° Celsius $k = 0{\cdot}00209$ bis $0{\cdot}00366$.

Angesichts der (auch bei einheitlicher Berechnung) außerordentlich abweichenden Zahlen, auch aus Gründen praktischer Erfahrung erheben sich Zweifel an der Gültigkeit der aufgezählten Koeffizienten. Es ist jedoch erforderlich, zur Vergleichung einander ähnlicher Materialien verläßliche Zahlenausdrücke und eine möglichst einfache Methode zur Auffindung derselben zu besitzen. Aus diesem Grunde und um überhaupt zur Erkenntnis des Wärmeverkehres in einseitig erhitzten Mineralien zu gelangen, wurden die nachfolgend beschriebenen Versuche angestellt.

## A.

Zunächst wurden, um die beim Erhitzen eintretende Temperaturerhöhung direkt zu beobachten, auf nachfolgend beschriebene Weise verfahren. Um dabei auch praktisch verwertbare Zahlen zu erhalten, wurden Formsteine aus Schamotte und Ziegelmasse der gewöhnlichen Dimensionen (6·5 × 12 × 25 cm) verwendet und in verschiedener Weise erhitzt. In bestimmten Entfernungen wurden Bohrungen mit eingesetztem

[1] *Mitteilungen aus dem Königlichen Materialprüfungsamt zu Berlin-Lichterfelde West 1914.*

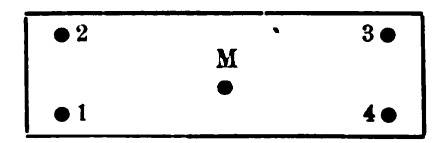




Thermometer angebracht, deren vollkommenere Berührung durch Quecksilber vermittelt wurde.

I. Um zu erkennen, ob die bei diesen Materialien vorauszusetzenden Ungleichmäßigkeiten des inneren Gefüges dem allseitig strahlenförmig sich fortpflanzenden Wärmefluß gegenüber wesentliche oder störende Größen anzunehmen vermögen, wurde folgender Versuch angestellt.

Auf einer der großen Flächen des Versuchssteines wurden fünf je 4 cm tiefe und 8 mm weite Bohrungen, eine derselben in der Mitte, die vier anderen symmetrisch wie in beifolgender Zeichnung, je 9·5 cm ententfernt, eingetrieben. In jede Bohrung wurde Quecksilber eingefüllt und




ein Thermometer eingestellt. Der Stein wurde unterhalb der Mitte erhitzt. Um diese Stelle einzugrenzen, wurde er auf eine große, 6 cm dicke, in der Mitte mit einer 4 cm weiten Öffnung versehene Schamotteplatte gelegt und die Bunsenbrennerflamme unter diese Öffnung gestellt. Das Thermometer der mittelsten Bohrung war demnach nur 2·5 cm über der erhitzten Stelle, die anderen mit 1, 2, 3, 4 bezeichneten Thermometergefäße waren je an 11 cm von derselben entfernt. Die Beobachtung ergab folgendes:

Das Fortschreiten der Temperatur in verschiedenen Richtungen findet nicht sehr gleichmäßig statt, doch halten sich die Unterschiede außerhalb störender Grenzen.

II. Hierauf wurden, um das zeitliche Fortschreiten der Temperatur in der Hauptrichtung eines Steines bei einseitigem Erhitzen zu beobachten, je ein Schamottestein und ein Ziegelstein auf ihre kleinsten Flächen gestellt und daselbst erhitzt, während die entgegengesetzte Fläche im Mittelpunkt mit einer 3·5 cm tiefen Bohrung und diese mit Quecksilber und einem Thermometer versehen wurde. Das Thermometergefäß befand sich sonach etwa 22 cm von der Hitzequelle entfernt.

Die Temperatur der untersten Fläche bzw. der untersten Steinschicht konnte durch Stellen der Bunsenbrennerflamme annähernd reguliert werden.

Die Oberflächentemperatur eines Körpers ist schwer festzustellen — nicht nur, weil eine Fläche kein Körper ist und somit keine Temperatur anzunehmen vermag, sondern namentlich auch deswegen, weil wir es bei der Untersuchung stets mit zwei Körpern meist ungleicher Temperatur zu tun haben, zwischen welche wir unsere Thermometer (Thermoelemente) bringen müssen. Ist der eine dieser Körper Luft, so



treten überdies die strömenden Bewegungen derselben, sowie die Strahlung des Körpers störend auf. Bei allen Körpern kann deshalb erst in einer gewissen Tiefe eine sichere Temperaturaufnahme erfolgen, oder es muß als annähernder Ersatz durch Vermittlung von Quecksilberschaltung die Temperatur aufgenommen und alsdann mit dem Thermometer gemessen werden.

Wenn ebene Flächen der uns vorliegenden Tonmaterialien von heißen Gasen oder Flammen berührt werden, so erstreckt sich eine erste heißeste Zone kaum bis in eine Tiefe von einem oder einigen Millimetern. Von hier an nimmt die Temperatur sehr rasch ab, so daß Interpolieren in der Nähe erhitzter Flächen unsichere Resultate ergibt. Außerdem besitzen gebrannte Formsteine in ihren äußersten Schichten infolge von Sinterungen eine von dem Innern abweichende Struktur. Folgendes sind die spezifischen Gewichte äußerer Splitter und andererseits dem Innern entnommener Brocken.

Ziegelstein: äußerste Schicht . . . . . . 2·356
innere Partikel . . . . . . 2·224

Die Temperatur der oberen Bohrung wurde alle 10 Minuten angeschrieben, und die Erhitzung so lange fortgesetzt, als das Thermometer stieg, und bei gleichbleibender Flamme keine Temperaturerhöhung weiter eintrat, sondern dieser Gleichgewichtszustand zwischen Wärmeeinfluß, seitlicher Abstrahlung und anderen Störungen auftrat. Die Zahlen der angelegten Tabellen ergeben ein Bild des Temperaturaufstieges in der Achse des Steines in 22 cm Entfernung vom Wärmeeinfluß, wobei die Temperatur der untersten Schicht auf rund 430° C bestimmt wurde.

Die Temperatur schreitet in beiden Steinen in dieser Entfernung außerordentlich langsam und ungleichmäßig vor (die Differenzen zwischen zwei Ablesungen sind sehr verschieden). Den höchsten Stand erreicht sie erst nach 90 bzw. 150 Minuten. Er beträgt nur 31° C bzw. 41° C. Die Zunahme über die Anfangstemperatur beträgt also nur 14° C bzw. 20° C.

Die Zahlen gehen bei den Schamottesteinen ziemlich parallel, während sie bei den Ziegelsteinen sich in den beiden ersten Stunden sehr getrennt voneinander halten (auf Grund größerer individueller Verschiedenheiten).

Daß die Schamotte ihre Höchsttemperatur später als die Ziegel erreicht, dürfte in der höheren spezifischen Wärme, die zu 0·248 bestimmt wurde, begründet sein. Die Kapazität der Ziegel fand sich gleich 0·209.

III. Zum Zweck der Temperaturermittlung einer dünnen, unmittelbar über der Flamme befindlichen Schicht wurde folgendermaßen verfahren:



a) Es wurden kleine Tongefäße mit nur millimeterdickem Boden angewendet, auch hergestellt, mit einem Stickstoff-Quecksilberthermometer versehen und, nachdem der Raum über der Thermometerkugel mit Pulver gleicher Masse ausgefüllt war, in der bestimmten Höhe über der Flamme aufgestellt. Nach wenigen Minuten erreichten die Thermometer die Temperaturen von 428° C bzw. 430, 426 und 429° C. Es kann wohl angenommen werden, daß die Temperatur einer gleich dünnen Schicht eines Steines bei gleicher Flamme eine gleiche oder ähnliche Höhe erreicht.

b) Bei den folgenden Versuchen über die Wärmeleitung schlagen Flammen an ein Kupferblech, das zwecks besserer Verbreitung der Wärme an den Versuchsstein angepreßt wird. Zu dem eben angegebenen Zwecke wurde zwischen die Kupferplatte und den Stein in eine entsprechende flache Vertiefung eine 1 mm dicke kleine Platte des gleichen Materials eingeschoben und nach 20 bis 30 Minuten die Temperatur untersucht; sie dürfte der bis etwa in 1 mm Tiefe des Steines sich einstellenden Temperatur entsprechen. Die Untersuchung fand in der Weise statt, daß die Platte rasch in ein kleines kalorimetrisches Gefäß versenkt und mit Hilfe der vorher festgestellten Wärmekapazität die Temperatur berechnet wurde.

c) Die spezifischen Gewichte wurden bestimmt an zerkleinertem Material, das durch ein Zweimillimetersieb abgetrennt worden war. Es bedarf hier offenbar für fernere Untersuchungen eines Übereinkommens. Im vorliegenden Falle stellten sich bei verschiedenen Exemplaren folgende Zahlen des spezifischen Gewichtes und des Volumengewichtes heraus:

| | Spezifisches Gewicht | | | Volumengewicht | |
|---|---|---|---|---|---|
| Schamotte . . . . | 2·322 | 2·347 | 2·352 | 1·78 | 2·07 |
| Ziegel . . . . . . | 2·223 | 2·224 | 2·356 | 1·99 | 2·10 |

IV. Hierauf wurde die Temperatur bei gleicher Versuchsanstellung in zwei je 3·5 cm tiefen Bohrungen in der Entfernung von 3 und 22 cm von der erhitzten Fläche aus beobachtet. Die Erhitzung wurde bis zum Eintritt des stationären Zustandes fortgesetzt. Die Erhitzungstemperatur der untersten, sehr dünnen Schicht wurde zu 450° C bestimmt.

Der Temperaturaufstieg geht in 22 cm Entfernung (am Ende des Steines) langsam und ungleichmäßig vor sich; in 3 cm Entfernung erhebt er sich zuerst rasch und geht dann langsam in die gleichbleibende Temperatur über.

V. In folgenden beiden Versuchen wurden zum Vergleich je ein Schamottestein und ein Ziegelstein gleichzeitig bis zum Eintritt des stationären Zustandes erhitzt. Um etwaige Ungleichheiten der Brenner auszugleichen, wurden dieselben alle 10 Minuten gegenseitig umgetauscht.





Die Temperaturen wurden wie gewöhnlich in zwei Bohrungen, in 3 cm Entfernung und in 22 bzw. 19 cm Entfernung aufgenommen und alle 10 Minuten abgelesen. Die Zahlen ergeben folgendes:

In beiden Versuchen erreichten die Ziegeln in 3 cm Entfernung eine höhere Temperatur, in 22 cm Entfernung dagegen steht in beiden Versuchen die Temperatur der Schamotte höher (im Gegensatz zu Versuch II).

VI. Im folgenden Versuch wurden drei Thermometer in der Entfernung von 3 cm, 12·5 cm und 22 cm in den Stein wie oben eingestellt und der Stein in gleicher Weise erhitzt.

Tabelle.

| Zeit | 22 cm | 12·5 cm | 3 cm |
|---|---|---|---|
| 0 Minuten | 20·7° C | 20·7° C | 20·7° C |
| 5 ,, | 20·8° C | 21·2° C | 24·2° C |
| 10 ,, | 20·8° C | 21·8° C | 27·8° C |
| 15 ,, | 21·0° C | 22·0° C | 32·0° C |
| 20 ,, | 21·8° C | 29·0° C | 72·0° C |
| 25 ,, | 24·6° C | 43·0° C | 116·0° C |
| 30 ,, | 27·6° C | 48·0° C | 130·0° C |
| 35 ,, | 29·0° C | 52·0° C | 135·0° C |

Die Tabelle und die Zeichnung auf den Koordinaten der Fig. 1 ergeben keine geradlinige Folge der gleichzeitigen Temperaturen vor dem Eintritt des Beharrungszustandes. Die Zeichnung stellt die gleichzeitigen Temperaturen nach 30 Minuten und deren Verbindungslinien mit einer starken Abbiegung bei 12·5 cm dar. Nach Einzeichnung der interpolierten Bogenlinien *d d* dürfte die an den verschiedenen Punkten des Steines zu findende Temperatur annähernd zu ersehen sein.

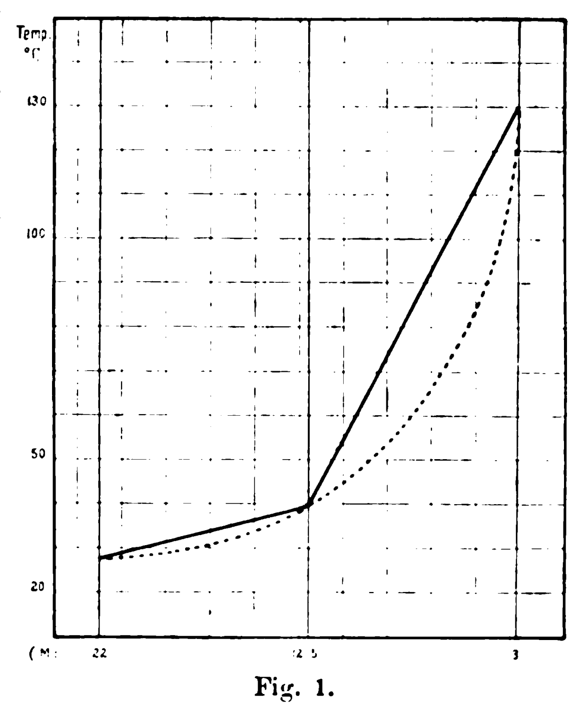


Fig. 1.

Die Zahlen bilden weder arithmetische, noch geometrische Reihen. Es tritt also der Beharrungszustand hier ohne Geradlinigkeit und ohne den geometrischen Reihen entsprechende Abbiegung auf.

In den bisherigen Versuchen wurden die Steine frei in der Luft stehend oder liegend (mit Auflage lediglich der Kanten) erhitzt, wobei



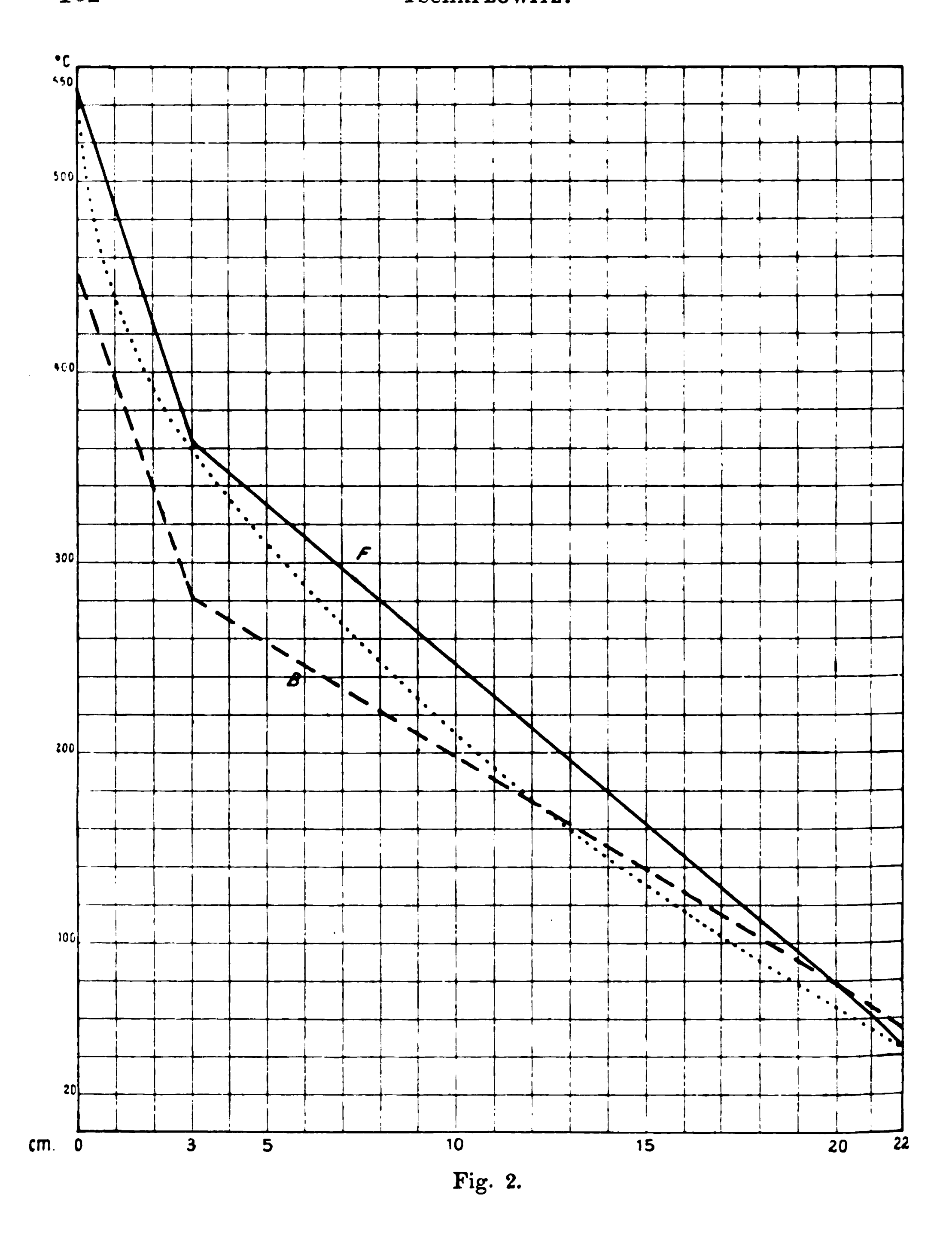



Fig. 2.

sie der Abstrahlung und Konvektion der Luft ausgesetzt waren. Die Methode empfiehlt sich besonders deswegen, weil sie, mit den einfachen Mitteln eines Laboratoriums ausgeführt, leicht mit Aussicht auf den Erhalt gleicher und vergleichbarer Resultate wiederholt zu werden vermag. Dieser Weg sollte deswegen immer eingeschlagen werden, weil es auf keine

Fig. 3.

andere Weise möglich ist, einen anderen zu vergleichenden Versuchsstein auf die gleichen Wärmebedingungen in Zu- und Abfluß einzustellen. Bei Umhüllungen, Bedeckungen, Einmauerungen dürfte es jedoch schwer, wenn nicht unmöglich sein, beim Kontrollversuch als auch bei der Wiederholung, auch bei anderen Steinen, genau die gleiche Umhüllung herzustellen.

## B.

VII. Im folgenden werden einige gleiche Versuche, aber mit verschiedener Umhüllung bzw. Bedeckung der Steine ausgeführt, angegeben. Es wurden stets Steine gleicher Art dicht, aber ohne Bindemittel an den Versuchsstein gepreßt. Die Resultate ergaben das Folgende:

Die Zahlen stehen im ganzen höher; die Abstrahlung entführte also mehr Wärme als die Ableitung durch Steine. Fig. 2 zeigt den Temperaturabfall in graphischer Darstellung.

Daß der Temperaturanstieg stets in verschiedener Weise ungleich stattfindet, erklärt sich lediglich aus den wechselnden Druck- und Heizkraftverhältnissen des Leuchtgases. Das Fortschreiten der Temperatur im Stein findet sehr langsam statt. Der Temperaturabfall ist sehr groß; bei Temperaturen der erhitzten Stelle von mehreren hundert Graden finden sich in 22 cm Entfernung nur Temperaturen von etwa 30 bis 50°.

C.

VIII. Folgender Versuch wurde mit einem drei Bohrungen enthaltenden Steine angestellt; die 3·5 cm tiefen Bohrungen waren auf der Mittellinie in der Entfernung von 3 cm, 12·5 cm und 22 cm angeordnet. Der Stein wurde frei in der Luft auf einer der kleinsten, mittels eines Kupferbleches zur besseren Temperaturverteilung bedeckten Flächen mit zwei Brennern erhitzt. Auch wurde durch Herstellen eines dachförmigen Hohlraumes, in welchem die Flammen zunächst wirkten, noch weiter eine möglichst gleichmäßige Temperaturverteilung auf diese Fläche bewirkt. Die Temperatur der äußersten Schicht der Fläche nach 20 Minuten, nach der unter III angegebenen Methode bestimmt, betrug rund 440 bis 450° C. Die Zahlen enthält folgende Tabelle, die Zeichnung Fig. 3.

| Zeit | 3 cm | 12·5 cm | 22 cm |
|---|---|---|---|
| 0 Minuten | 19° C | 19° C | 19° C |
| 60 ,, | 190° C | 32° C | 22° C |
| 120 ,, | 212° C | 42° C | 23° C |
| 180 ,, | 222° C | 47° C | 23° C |
| 240 ,, | 228° C | 48° C | 26° C |

Die Temperaturen des Beharrungszustandes ergeben keine geometrische Reihe; in ein Koordinatensystem eingezeichnet (Fig. 3) bilden sie eine Kurve, die sich bei den gewählten Abständen der Abszisse und der Koordinaten zuerst steil abwärts bewegt, sich dann fast kreisbogenförmig fortsetzt und hierauf etwa von der Mitte des Steines an sich langsam der Horizontalen nähert. Bei wechselnder Anfangstemperatur liegt die Kurve ungleich entsprechend höher oder tiefer, wie vier andere Versuche bestätigten.

Der auf Fig. 3 gekennzeichnete Versuch ergibt bei doppelter Länge der Abszisse eine Kurve, die einem Parabelschenkel fast vollständig gleicht. Der in allen diesen Versuchen sich zeigende sehr hohe Temperaturabfall

ergibt zunächst, daß nur in einer sehr dünnen Oberflächenschicht einigermaßen angenähert die Höhe der Temperatur des wärmeabgebenden Körpers — der Flamme — erreicht wird.

In guten Leitern (Metallen) nehmen die Schichten nur wenig und stets gleichmäßig in ihren Temperaturen ab, die Verbindungslinien (bei graphischer Darstellung) sind geradlinig: es gilt das Geradlinigkeitsgesetz, bei Stäben mit seitlichem Abfluß das der geometrischen Reihen. Anders hier bei den schlechten Leitern der vorliegenden Klasse.

Der in den Versuchen gefundene große Temperaturabfall, wie ihn besonders der erste Teil des Bogens bei der zeichnerischen Darstellung angibt und welcher die Abstrahlungsgrößen weit übertrifft, zwingt uns, andere Ursachen aufzusuchen: Es dürfte keinem Zweifel unterliegen, daß die Vergrößerungen der räumlichen Entfernung der Partikel, also die Volumenvermehrung, hier wohl die Hauptursache bildet. Die hier erforderliche innere und äußere Arbeit ist größer als bei guten Wärmeleitern, was sich hier darin ausspricht, daß die Wärmekapazität der Tonsteine größer, der Ausdehnungskoeffizient aber kleiner ist als diese Konstanten bei Metallen. Demnach ist die verschwundene Wärme latent geworden. Sie tritt beim Erlöschen des Wärmeeinflusses wieder als meßbare Wärme zutage. Bei den unter VII. aufgeführten Versuchen mit bedeckten Steinen nähern sich die Verbindungslinien bzw. die Bogen nur in geringem Maß der Geraden, wie die Linien der Fig. 2 ($B$ = Temperatur des bedeckten und $F$ = Temperatur des freiliegenden Steines) zeigen.

Die so ermittelten, in der Konstitution der Steine begründeten Kurven der Temperaturverteilung drücken das Wärmeverhalten besser aus als ein schwierig zu ermittelnder, unsicherer und dennoch nicht erschöpfender Wärmeleitungskoeffizient. Die Kurven zeigen auch, daß in den nächsten ersten Schichten des Steines trotz stärksten Temperaturabfalles doch gleichzeitig die stärkste Temperaturanhäufung im Stein stattfindet, so daß z. B. im ersten Viertel des Steines weit über die Hälfte der gesamten Wärmemenge enthalten ist.[1]

[1] Diese große Wärmemenge liegt einschließlich der latenten Wärme bei Öfen in den innersten Schichten des Gemäuers, des Feuerraums und der Züge. Und zwar liegt sie nach dem Erlöschen des Feuers Tag und Nacht der kalten durchströmenden Luft preisgegeben und wird nutzlos entführt, was hauptsächlich den sehr großen Wärmeverlust der alten, hohen Kachelöfen verschuldet. Es mußte deshalb ein Ofen konstruiert werden, der auf kürzerem Weg einen größeren Teil dieser Wärme auf die Oberfläche der Kacheln und damit in das Zimmer führt. Daß aber von der im Heizraum erzeugten Wärme überhaupt eine größere Menge als bisher gewonnen wird, dazu bedurfte es horizontaler Zuglegung. Beide Ver-



Aus dem großen Temperaturabfall geht hervor, daß, weil bei den Leitern der vorliegenden Art ein großer Teil der Wärme latent wird, bei der inneren wie bei der äußeren Wärmeleitung ein Wärmeleitungskoeffizient $k$ in gleichem Sinne und in der gleichen Bedeutung wie bei guten Leitern überhaupt nicht aufgestellt werden kann.

Der Wärmeleitungskoeffizient bezeichnet eine Wärmemenge, die einen bestimmten Weg pro Temperaturgrad, Zeit und Querschnitt (in bestimmten Maßeinheiten) gleichmäßig durchwandert, wie die Fouriersche Formel

$$k = \frac{W \delta}{(t - t_1) q \cdot z},$$

worin $W$ = Wärmefluß, $\delta$ = Entfernung, $t - t_1$ = die beiden Temperaturen, $q$ = Querschnitt und $z$ = Zeit, darlegt. Die in einen Stein eingetretene Wärmemenge läßt sich aber aus dem angegebenen Grunde nicht messen. Diese Menge vor dem Eintritt in den Stein zu messen, scheitert aus mehreren Gründen. Wir besitzen auch kein Kalorimeter, das bei so porösen Materialien in genügend dichte Berührung mit den Flächen des Objektes gebracht werden kann. Das gleiche gilt für Messungen nach dem Austritt. Wir müssen uns also damit begnügen, lediglich die vom Thermometer angegebenen Temperaturen als Vergleichszahlen zu benutzen.

Da, wo praktische Anwendungen, Vergleichungen verschiedener Materialien die Kenntnis dieser Temperaturen erfordern, ist es nach Anstellung eines Versuches in obiger Weise leicht, mit Hilfe der interpolierten Kurve die Temperatur bestimmter Punkte innerhalb eines Steines oder am anderen Ende desselben zu ermitteln. Selbstverständlich können diese Zahlen auch zur Ermittlung der kalorischen Werte benutzt werden.

Schließlich folgten einige die äußere Wärmeleitung betreffende Versuche, die noch fortgesetzt werden sollen. Es wurden Platten oder dünne Scheiben dieser Materialien benutzt, und beiderseits Quecksilber als Temperaturüberträger angewendet.

---

besserungen sind in einem gemischten Ofen, dem Malgreofen, ausgeführt. Eine physikalischen Gesetzen angepaßte, auf eiserner Fußplatte ruhende Unterkonstruktion gewährt zugleich Fußwärme, Unterwärme und hierdurch eine bessere Durchwärmung des ganzen Zimmers. Die Malgreöfen sind deshalb die rationellst und sparsamst heizenden Öfen, wie durch zahlreiche veröffentlichte Heizversuche erwiesen ist.



[Aus dem Beobachtungsspital in Ung.-Hradisch.]

# Beitrag zur Fleckfieberdiagnose.

Von

Dr. **M. Salpeter** und **A. Schmitz.**

Die hiesige Station dient zur Quarantänierung durchziehender Bevölkerungsgruppen, die in ihrer ursprünglichen Zusammensetzung beisammen bleiben. Dadurch bietet sich Gelegenheit, nach dem Ursprungsorte verschiedene Epidemien in bezug auf ihren speziellen Charakter und Ausbreitungsweise zu studieren. Bei einer dieser Gruppen, die aus dem fernen Osten stammte, trat nun neben einigen unzweifelhaften Fleckfieberfällen eine größere Anzahl von Erkrankungen auf, die unter folgenden Erscheinungen verliefen: Ziemlich rascher Anstieg des Fiebers, etwa 12 bis 14 Tage lang andauerndes Verbleiben des Fiebers zwischen 39 und 40°, Kopfschmerzen, Gliederschmerzen, Ohrensausen, mäßige Milzschwellung, kurz bis auf das vollständige Fehlen des Exanthems dieselben Erscheinungen wie bei den sicheren Fleckfieberfällen dieser Gruppe. Die bakteriologische und serologische Untersuchung auf Bauchtyphus fiel vollkommen negativ aus. Da die Fälle gegenüber denen mit Ausschlag in der Mehrzahl waren, und es darum nicht anging, sie als Ausnahme von der Regel zu betrachten, wurde die Diagnose in suspenso gelassen. Einige Zeit nachher ergaben sich bei einem aus einer ganz anderen Gegend stammenden Transporte ähnliche Verhältnisse. Unterdessen begannen wir mit der Serumprüfung nach Weil-Felix, die aus später zu erklärenden Gründen neben der klinischen Beobachtung als ziemlich eindeutig für Fleckfieber erklärt werden muß. Genaues Studium führte nun zu dem zwingenden Schlusse, daß der Ausschlag bei Fleckfieber nicht in jeder Epidemie pro-



zentuell gleich häufig ist, ja daß die Anzahl der Fälle ohne Ausschlag bis zu 60 Prozent und mehr gehen kann. Die von einigen Autoren geäußerte

Fig. 1.
Z. Kosc, 11 Jahre. Siehe Tabelle I, Nr. 6.

Ansicht, daß der Ausschlag stets auftritt und sich in manchen Fällen nur einige Stunden lang erhält, hat wohl nur akademischen Wert, denn dia-

gnostisch kann man eine so rasch verschwindende Erscheinung nicht benützen, besonders, da der Einwand noch immer frei bliebe, daß der Aus-

Fig. 2.
H. Chane, 11 Jahre. Siehe Tabelle I, Nr. 13.

schlag zu irgendeiner Nachtstunde erschienen sei und bei künstlichem Licht übersehen wurde. In unserer Statistik wurden jene Fälle als ohne





Ausschlag verlaufend geführt, welche von Anfang der Erkrankung an, spätestens vom 3. Krankheitstage an in Spitalsbehandlung standen und

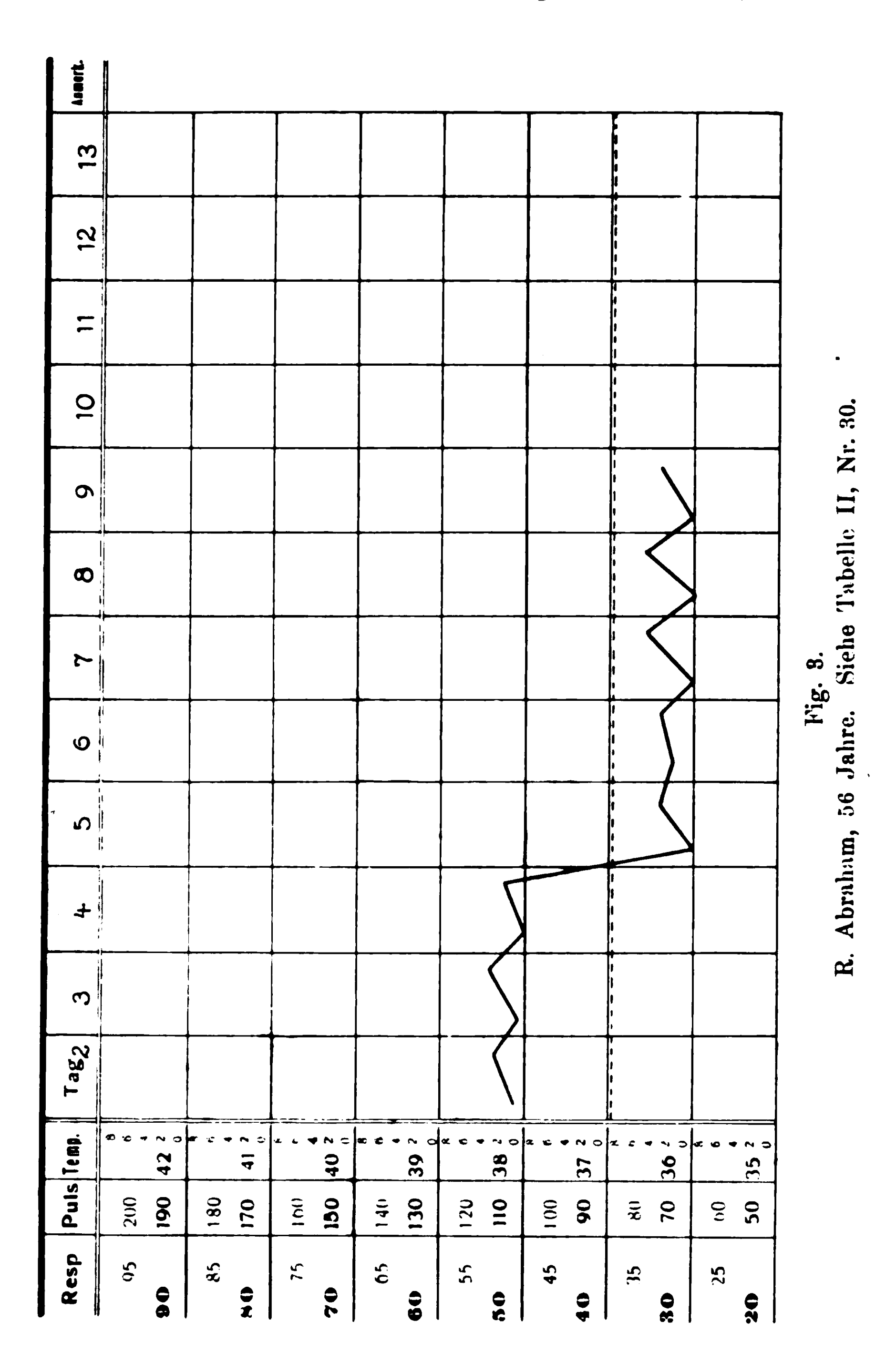



Fig. 8.
R. Abraham, 56 Jahre. Siehe Tabelle II, Nr. 30.

in denen bei sorgfältiger Nachforschung, auch bei Erwärmung, nach dem Bade oder an durch Stauung hyperämisierten Gliedern gar keine Flecken

gesehen wurden. Zur Kontrolle der Bedeutung der Weil-Felixschen Reaktion wurden ganze Reihen von anderen Krankheitsfällen untersucht.

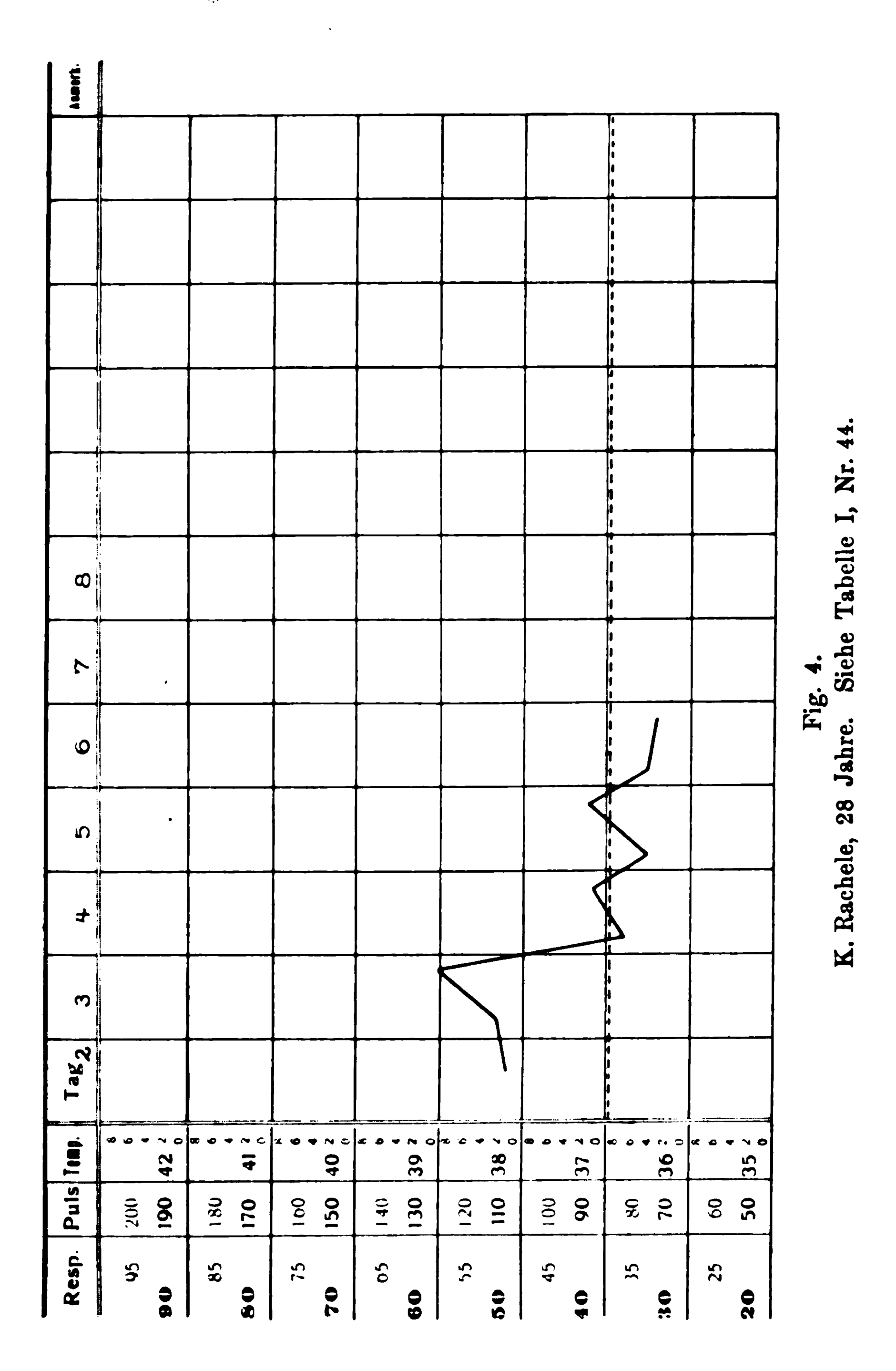



Fig. 4.
K. Rachele, 28 Jahre. Siehe Tabelle I, Nr. 44.

Ebenso wurden alle Fleckfieberfälle serologisch auf Bauchtyphus geprüft. Abgesehen von den Fällen ohne Exanthem zeigten sich auch sonst viele

atypische Fälle. Nach den hier gemachten Erfahrungen sind außer den klinischen Erscheinungen objektiv diagnostisch verwertbar:

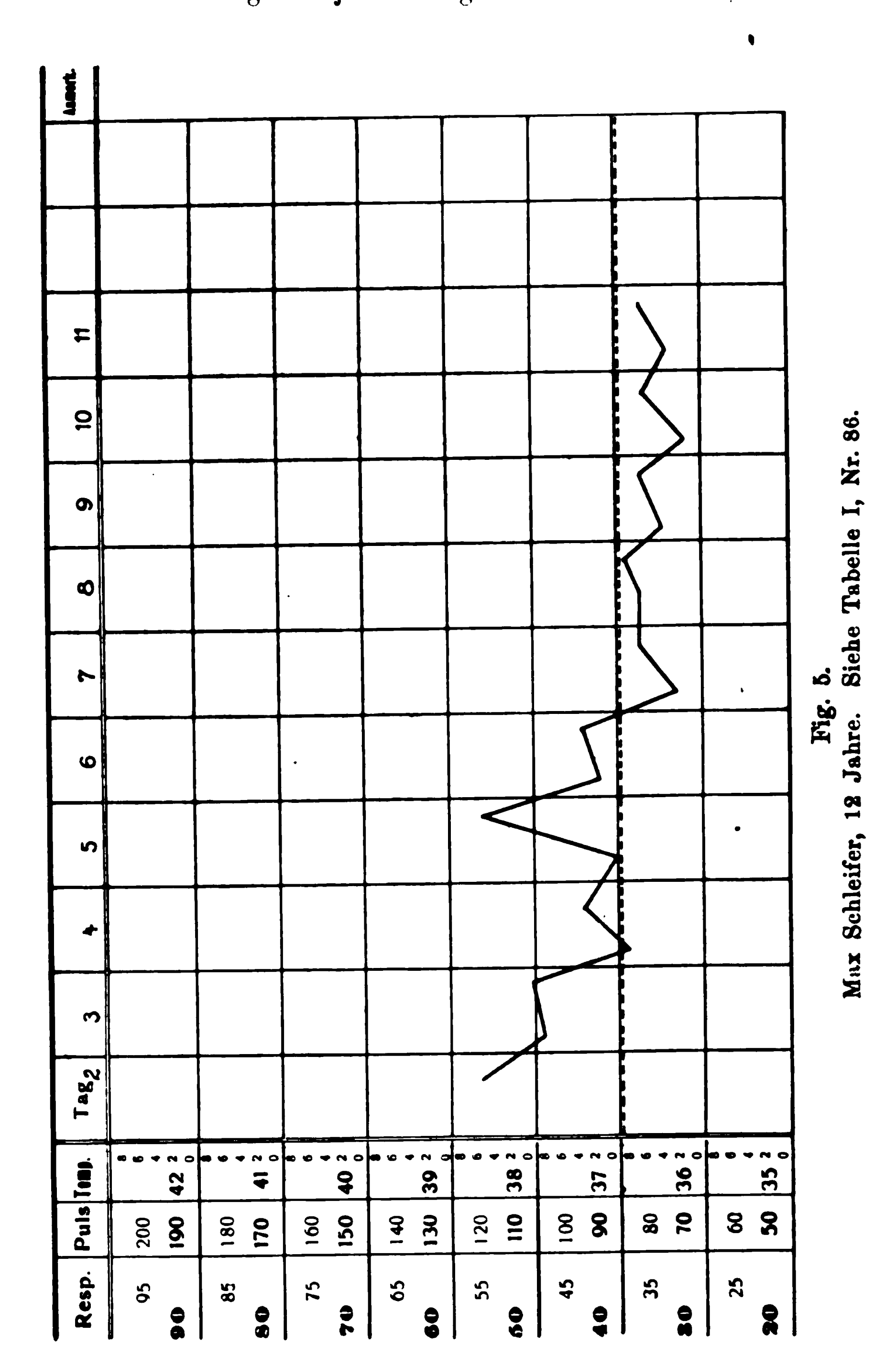



Fig. 5.
Max Schleifer, 12 Jahre. Siehe Tabelle I, Nr. 86.

der positive Ausfall der Weil-Felixschen Reaktion, mit regelmäßig ansteigendem und während der Rekonvaleszenz langsam ab-

**fallendem Titer, wobei oft die verwendeten Stämme $X_2$ und $X_{19}$ vikariieren;**

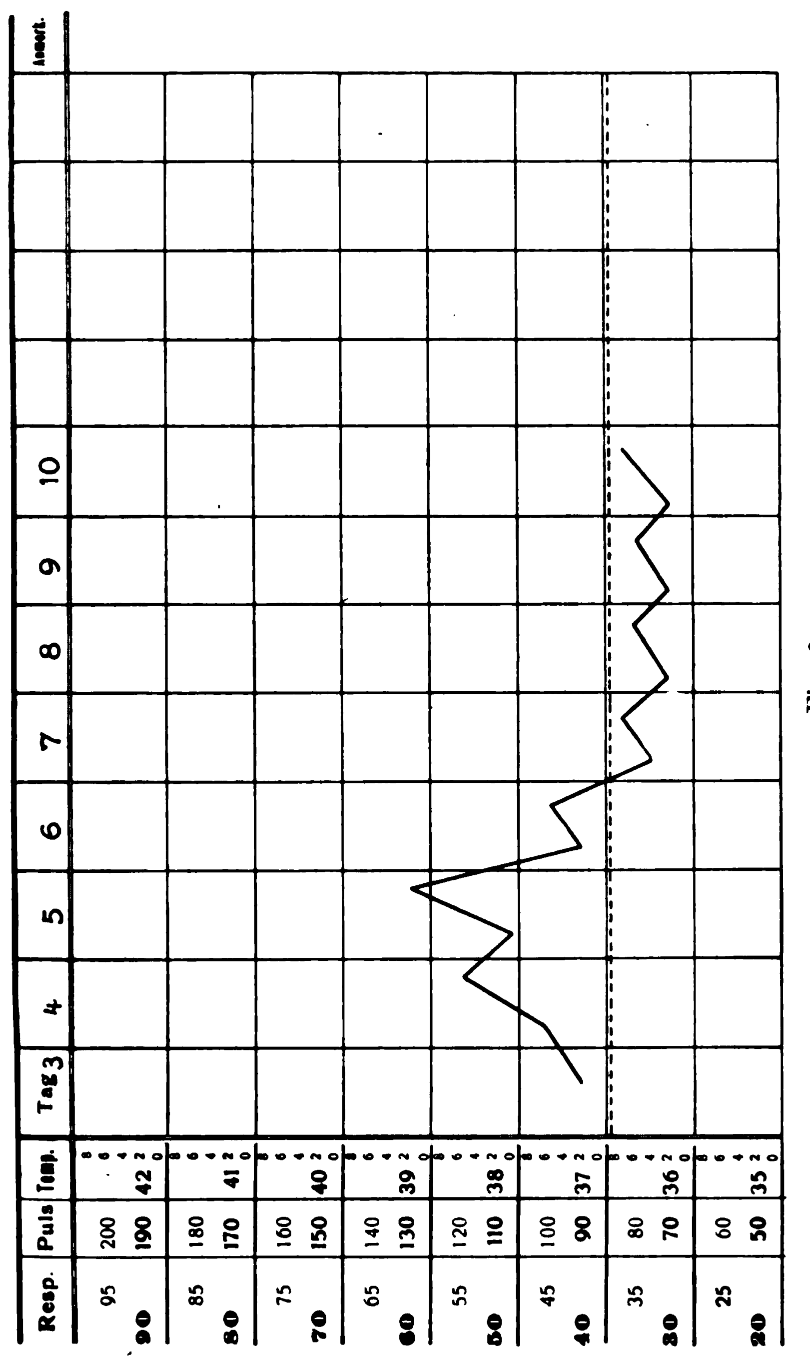



Fig. 6.
Mina Schleifer, 7 Jahre. Siehe Tabelle II, Nr. 87.

die sehr deutlich positive Diazoreaktion,
das negative Ergebnis der Widalschen Probe.

Wenn innerhalb einer Fleckfieberepidemie verdächtige Fälle diese drei Symptome aufweisen, dann ist auch beim Fehlen jeglichen Exanthems, bei unregelmäßigem Fieber und sonst atypischem Verlauf nicht daran zu zweifeln, daß es sich um Fleckfieber handelt. Dieser Umstand ist besonders in prophylaktischer Hinsicht wichtig. Äußerst lehrreich waren in dieser Beziehung die Fleckfieberserien in einigen Familien, wo die ersten Fälle ganz unscheinbar verliefen — einige Male betrafen die ersten auftretenden Fälle Kinder —, aber auf Grund der angeführten Merkmale als Fleckfieber diagnostiziert wurden. Trotz der Unmöglichkeit eines anderen Infektionsweges folgten auch richtig innerhalb der Inkubationszeit weitere Erkrankungen mit typischem Verlauf (Gruppe Nr. 8 bis 11, 37 bis 40, 86 bis 89).

Auch hinsichtlich der Prognose ist das Auftreten oder Fehlen des Ausschlages bedeutungslos. Als prognostisch ungünstig ist nur das Hämorrhagischwerden des Exanthems anzusehen.

Die Weil-Felixsche Reaktion wurde systematisch in Zwischenräumen von 5 Tagen ausgeführt. Agglutinationswerte von weniger als 1 : 50 sind wohl, wie Weil und Felix selbst angeben, auf Normalagglutinine zurückzuführen und wurden daher als negativ angesehen. In einigen Fällen wurde die Reaktion lange nach der Erkrankung — bis zu 17 Monaten — vorgenommen. Besonders auffallend ist das rasche Ansteigen des Titers während der Krankheit.

Die klinisch atypischen und verhältnismäßig leichten Fälle betreffen vorwiegend Kinder bis zu 10 Jahren. Die Kontrolluntersuchungen wurden außer an Gesunden an Masern, Scharlach, Variola und Typhus abdominalis in verschiedenen Krankheitsstadien sowie auch an einigen Fällen von Pneumonie, Tuberkulose u. a. vorgenommen. Dieselben fielen, wie die betreffenden Tabellen zeigen, ohne Ausnahme negativ aus.

Bemerkenswert ist noch, daß das sogenannte „Radiergummiphänomen“ sowie auch die später auftretende Schuppung bei allen Fällen, also auch bei denen, die kein Exanthem zeigten, beobachtet wurde.

Zur Illustration der atypischen Fälle dienen die beigefügten Temperaturkurven Figg. 1 bis 6.



Tabelle I.

| Nr. | Tag der Aufnahme | Name und Alter in Jahren | Exanthem | Diazo | Widal | Weil-Felixsche Reaktion am 2. bis 4. Krankheitstage | Weil-Felixsche Reaktion am 7. bis 11. Krankheitstage | Weil-Felixsche Reaktion am 14 Tage nach der Entfieberung | Anmerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1. VIII. 16 | W. S., 14 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 100 | | Am 16. Krankheitstage Temp.-Abf., ges. entl. |
| 2 | 1. VIII. 16 | O. S., 4 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 100 | | Am 9. Krankheitstage Temp.-Abf., ges. entl. |
| 3 | 5. VIII. 16 | J. E., 12 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 100 | | Hohe Continua v. 7 Tag., gesund entlassen. |
| 4 | 5. VIII. 16 | J. E., 10 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 100 | | Dasselbe. |
| 5 | 17. VIII. 16 | L. B., 37 | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 200 | | Typ. Fieberverl., ges. e. |
| 6 | 20. VIII. 16 | K. Z., 12 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 200 | | Atypisch. Fieberverlauf, s. Kurve I, gesund entl. |
| 7 | 23. VIII. 16 | T. K., 11 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 1600 | | Continua 8 Tage zw. 39° und 40°, gesund entl. |
| 8 | 20. VIII. 16 | M. Berger, 3 | – | + | – | | | | Stark remitt. Fieb. währ. 9 Tagen, gesund entl. |
| 9 | 20. VIII. 16 | G. Berger, 6 | – | + | – | | | | Ebenso 7 Tagen, ges. entl. |
| 10 | 21. VIII. 16 | M. Berger, 38 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 50 | | | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 11 | 21. VIII. 16 | F. Berger, 11 | – | + | – | $X_{19}$ 1 : 50 | | | Dasselbe. |
| 12 | 24. VIII. 16 | J. St., 18 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 400 | | Stark remitt. Fieb., ges. |
| 13 | 24. VIII. 16 | Ch. H., 11 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 200 | | Atyp. Fieber, Kurve II. |
| 14 | 29. VIII. 16 | P. Weisskopf, 42 | + | + | – | | | | Klin. typ. Verl., g. entl. |
| 15 | 21. IX. 16 | F. Weisskopf, 7 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 400 | $X_{19}$ 1 : 800 | Nach 3 Mon. $X_{19}$ 1 : 100. |
| 16 | 26. IX. 16 | M. Weisskopf, 14 | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 400 | | Klin. typ. Verl., g. entl. |
| 17 | 29. IX. 16 | J. Weisskopf, 8 | – | + | – | $X_{19}$ 1 : 100 | | | Kurze Continua zw. 39° und 40°, gesund entl, |
| 18 | 1. IX. 16 | M. Wasilkiewicz, 10 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 100 | | | Hämorrhag. Exanthem., schwerer Verl., g. entl. |
| 19 | 5. IX. 16 | G. Wasilkiewicz, 7. | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 50 | | | Kurze Cont. v. 6 Tagen zw. 39 u. 40°, ges. entl. |
| 20 | 6. IX. 16 | R. Wasilkiewicz, 14 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 50 | | | Fieberdauer ca. 10 Tage, gesund entlassen. |
| 21 | 10. IX. 16 | F. Wasilkiewicz, 16 | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 100 | | Fieberdauer ca. 14 Tage, gesund entlassen. |
| 22 | 5. IX. 16 | Fr. Wasilkiewicz, 9 | | + | – | | $X_{19}$ 1 : 800 | | Fieberdauer ca. 13 Tage, gesund entlassen. |

Tabelle I. (Fortsetzung.)

| Nr. | Tag der Aufnahme | Name und Alter in Jahren | Exanthem | Diazo | Widal | Weil-Felixsche Reaktion am 2. bis 4. Krankheitstage | Weil-Felixsche Reaktion am 7. bis 11. Krankheitstage | Weil-Felixsche Reaktion am 14 Tage nach der Entfieberung | Anmerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 23 | 5. IX. 16 | W. Nasiewicz, 10 | – | + | – | $X_{19}$ 1 : 50 | | | Fieberdauer 9 T., schwerer Verlauf, ges. entl. |
| 24 | 7. IX. 16 | J. Nasiewicz, 17 | + | + | – | $X_{19}$ – | | | Hämorrhag. Exanthem, schw. Verl., ges. entl. |
| 25 | 4. IX. 16 | R. Nasiewicz, 13 | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 200 | | 11 T. hoh. Fieb., g. entl. |
| 26 | 7. IX. 16 | J. S., 30 | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 800 | | 13 T. hoh. Fieb., g. entl. |
| 27 | 8. IX. 16 | Sch. W., 30 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 800 | | Exitus a. 17. Krankhtg. |
| 28 | 10. IX. 16 | St. U., 17 | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 800 | | Klin. typ. Verl., g. entl. |
| 29 | 26. IX. 16 | F. R., 25 | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 1200 | | Klin. typ. Verl., g. entl. |
| 30 | 24. IX. 16 | A. R., 56 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 800 | | Atyp. Verl., Kurve III, gesund entlassen. |
| 31 | 24. IX. 16 | J. L., 8 | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 200 | | Klin. typ. Fall, g. entl. |
| 32 | 24. IX. 16 | P. M., 24 | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 200 | | Klin. typ. Fall, g. entl. |
| 33 | 25. IX. 16 | Ch. T., 18 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 200 | | Klin. typ. Fall, g. entl. |
| 34 | 2. X. 16 | N. B., 6 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 200 | | 100 Tage stark remittier. Fieber, gesund entlass. |
| 35 | 9. X. 16 | R. B., 16 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 100 | | | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 36 | 9. X. 16 | R. B., 42 | + | + | – | $X_{19}$ — | | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 37 | 9. X. 16 | S. Selzer, 10 | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 200 | | Hohe Continua v. 11 T., sehr leichter Verlauf |
| 38 | 20. X. 16 | B. Selzer, 32 | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 200 | | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 39 | 20. X. 16 | J. Selzer, 12 | – | + | 1 : 100 | | $X_{19}$ 1 : 200 | | ,, ,, ,, ,, ,, Pat. hat angebl. Typhus abd. durchgemacht. |
| 40 | 23. X. 16 | M. Selzer, 3 | – | + | – | $X_{19}$ 1 : 1600 | | | Blutentn. erf. a. 3. Krankheitst., Pat. bef. sich schon 4 T. v. Ausbruch des Fiebers im Spital. |
| 41 | 2. X. 16 | I. R., 28 | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 400 | | Schwerer Verl., Exitus am 15. Krankheitstage. |
| 42 | 3. X. 16 | J. M., 43 | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 1600 | | Norm. Fieberverl., g. e. |
| 43 | 13. X. 16 | S. B., 58 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 200 | | | Schwerer Verlauf, Exit. am 12. Krankheitstage. |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 44 | 17. X. | 16 | R. R., 28 . . . . . | | + | | $X_{19}$ 1 : 1600 | | | Fieberverl. abortiv, i. d. Anamn. kein Anhaltsp. f. überst. Fleckf. K. IV. |
| 45 | 17. X. | 16 | M. M., 17 . . . . | + | + | − | $X_{19}$ — | | | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 46 | 18. X. | 16 | N. K., 35 . . . . | + | + | − | $X_{19}$ 1 : 100 | | | Ex. am 5. Krankheitst. |
| 47 | 19. X. | 16 | F. Sch., 51 . . . . | − | | − | $X_{19}$ 1 : 100 | | | ,, ,, 7. ,, |
| 48 | 21. X. | 16 | F. G., 20 . . . . . | + | + | − | $X_{19}$ 1 : 800 | | | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 49 | 22. X. | 16 | M. Reiner, 14 . . . | + | + | − | $X_{19}$ 1 : 50 | | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 50 | 18. XI. | 16 | J. Reiner, 16 . . . | − | + | − | $X_{19}$ — | $X_{19}$ 1 : 50 | $X_{19}$ 1 : 100 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 51 | 25. X. | 16 | E. H., 13. . . . . | + | + | − | $X_{19}$ 1 : 50 | | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 52 | 27. X. | 16 | L. B., 42 . . . . | − | + | − | | $X_{19}$ 1 : 400 | | 2 Mon. spät. $X_{19}$ 1 : 800; typ. Verl., ges. entl. |
| 53 | 28. X. | 16 | N. H., 41 . . . . | ? | + | − | $X_{19}$ 1 : 50 | | | Nach d. Entfieberung Exitus an Pneumonie. |
| 54 | 28. X. | 16 | W. G., 43 . . . . | + | | − | $X_{19}$ 1 : 200 | | | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 55 | 28. X. | 16 | V. M., 37. . . . . | + | + | − | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 3000 | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 56 | 28. X. | 16 | W. A., 9 . . . . . | − | + | − | $X_{19}$ —<br>$X_2$ 1 : 100 | $X_{19}$ —<br>$X_2$ 1 : 50 | | 2 Mon. später $X_{19}$ 1 : 50; klin. typ. schw. Verl., g. e. |
| 57 | 7. XI. | 16 | T. B., 14 . . . . | + | + | − | | $X_{19}$ 1 : 3000 | | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 58 | 12. XI. | 16 | T. H., 16 . . . . | + | + | − | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 6000 | | 2 Mon. spät. $X_{19}$ 1 : 1600, klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 59 | 12. XI. | 16 | N. H., 42 . . . . | + | + | − | $X_{19}$ — | $X_{19}$ 1 : 200 | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 60 | 17. XI. | 16 | A. R., 30 . . . . | + | + | − | $X_2$ 1 : 100<br>$X_{19}$ — | $X_2$ 1 : 400<br>$X_{19}$ 1 : 800 | $X_2$ 1 : 400<br>$X_{19}$ 1 : 800 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 61 | 20. XI. | 16 | T. O., 20 . . . . | + | + | − | | $X_{19}$ 1 : 400 | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 62 | 26. XI. | 16 | M. St., 16 . . . . | + | + | − | $X_{19}$ — | $X_{19}$ 1 : 200 | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 63 | 28. XI. | 16 | W. L., 16 . . . . | + | + | − | $X_{19}$ — | $X_{19}$ 1 : 200 | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 64 | 28. XI. | 16 | H. F., 14 . . . . | + | + | − | $X_{19}$ — | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 3000 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 65 | 28. XI. | 16 | D. Fl., 63 . . . . | + | + | − | $X_{19}$ — | $X_{19}$ 1 : 100 | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 66 | 28. XI. | 16 | Ch. Wechsmann, 15 | + | + | − | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 800 | $X_{19}$ 1 : 1600 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 67 | 1. XII. | 16 | L. Wechsmann, 3 . | + | − | − | $X_{19}$ 1 : 400 | $X_{19}$ 1 : 3000 | | 5 Tage Fieber, sehr leichter Fall, gesund entlass. |
| 68 | 1. XII. | 16 | S. Wechsmann, 4 . | − | − | − | $X_{19}$ 1 : 200 | $X_{19}$ 1 : 3000 | | 6 Tage Fieber, wie vorst. |
| 69 | 29. XI. | 16 | G. Sch., 30 . . . | + | + | − | $X_{19}$ 1 : 50 | $X_{19}$ 1 : 400 | $X_{19}$ 1 : 3000 | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 70 | 28. XI. | 16 | P. S., 18 . . . . . | + | + | − | $X_{19}$ 1 : 400 | $X_{19}$ 1 : 800 | $X_{19}$ 1 : 1600 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 71 | 28. XI. | 16 | H. R., 28 . . . . | + | + | − | $X_{19}$ — | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 800 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 72 | 29. XI. | 16 | N. Sch., 60 . . . | + | + | − | $X_{19}$ — | $X_{19}$ 1 : 50 | | Ex. am 19. Krankheitst. |
| 73 | 29. XI. | 16 | H. Wollner, 15 . . | + | + | − | $X_{19}$ 1 : 50 | $X_{19}$ 1 : 400 | | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 74 | 29. XI. | 16 | C. Wollner, 18 . . | + | + | − | $X_2$ 1 : 100<br>$X_{19}$ — | $X_{19}$ 1 : 400 | $X_{19}$ 1 : 1600 | ,, ,, ,, ,, ,, |

Tabelle I. (Fortsetzung.)

| Nr. | Tag der Aufnahme | Name und Alter in Jahren | Exanthem | Diazo | Widal | Weil-Felixsche Reaktion am 2. bis 4. Krankheitstage | Weil-Felixsche Reaktion am 7. bis 11. Krankheitstage | Weil-Felixsche Reaktion am 14 Tage nach der Entfieberung | Anmerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 75 | 30. XI. 16 | M. Wollner, 10 | + | ? | – | $X_{19}$ – | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 800 | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 76 | 30. XI. 16 | Cl. Wollner, 8 | + | ? | – | $X_{19}$ – | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 400 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 77 | 30. XI. 16 | M. F., 61 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 1600 | | Ex. am 11. Krankheitst. |
| 78 | 30. XI. 16 | R. F., 36 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 800 | $X_{19}$ 1 : 3000 | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 79 | 30. XI. 16 | F. Steckmann, 13 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 6000 | $X_{19}$ 1 : 1600 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 80 | 1. XII. 16 | R. Steckmann, 15 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 50 | $X_{19}$ 1 : 400 | $X_{19}$ 1 : 3000 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 81 | 17. XII. 16 | E. Steckmann, 10 | – | + | – | $X_{19}$ – | $X_{19}$ 1 : 1600 | | 6 Tage Fieber, ges. entl. |
| 82 | 17. XII. 16 | S. Steckmann, 5 | – | ? | – | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 800 | | 5 ,, ,, ,, ,, |
| 83 | 1. XII. 16 | S. Helfer, 14 | + | + | – | $X_{19}$ – | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 800 | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 84 | 1. XII. 16 | M. Helfer, 9 | + | + | – | $X_{19}$ – | $X_{19}$ 1 : 800 | $X_{19}$ 1 : 800 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 85 | 1. XII. 16 | Cl. H., 13 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 50 | $X_{19}$ 1 : 1600 | $X_{19}$ 1 : 6000 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 86 | 1. XII. 16 | M. Schleifer, 12 | – | – | – | $X_2$ 1 : 100<br>$X_{19}$ – | $X_2$ 1 : 50<br>$X_{19}$ – | $X_2$ –<br>$X_{19}$ 1 : 100 | Abortiver Verlauf, Kurve V, gesund entlassen. |
| 87 | 1. XII. 16 | M. Schleifer, 7 | – | – | – | $X_2$ 1 : 50<br>$X_{19}$ 1 : 200 | $X_2$ 1 : 400<br>$X_{19}$ 1 : 6000 | $X_2$ 1 : 100<br>$X_{19}$ 1 : 800 | Abortiver Verlauf, Kurve VI, gesund entlass. |
| 88 | 7. XII. 16 | C. Schleifer, 33 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 400 | $X_{19}$ 1 : 800 | $X_{19}$ 1 : 1600 | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 89 | 12. XII. 16 | J. Schleifer, 10 | – | – | – | $X_{19}$ – | $X_{19}$ 1 : 400 | $X_{19}$ 1 : 1600 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 90 | 30. XI. 16 | M. Wucher, 11 | + | + | – | $X_2$ 1 : 50<br>$X_{19}$ 1 : 100 | $X_2$ 1 : 100<br>$X_{19}$ 1 : 400 | $X_{19}$ 1 : 400 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 91 | 1. XII. 16 | N. Wucher, 8 | + | + | – | $X_2$ –<br>$X_{19}$ 1 : 50 | $X_2$ 1 : 400<br>$X_{19}$ 1 : 800 | $X_{19}$ 1 : 400 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 92 | 1. XII. 16 | M. Wucher, 14 | – | + | – | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 800 | $X_{19}$ 1 : 800 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 93 | 1. XII. 16 | A. Wucher, 6 | + | + | – | $X_{19}$ – | $X_{19}$ 1 : 800 | $X_{19}$ 1 : 200 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 94 | 1. XII. 16 | B. Krumholz, 16 | + | + | – | $X_{19}$ – | $X_{19}$ 1 : 400 | $X_{19}$ 1 : 3000 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 95 | 1. XII. 16 | L. Krumholz, 14 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 50 | $X_{19}$51 : 6000 | $X_{19}$ 1 : 1600 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 96 | 1. XII. 16 | F. Krumholz, 29 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 200 | $X_{19}$ 1 : 800 | $X_{19}$ 1 : 6000 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 97 | 11. XII. 16 | O. Weinreich, 16 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 200 | $X_{19}$ 1 : 1600 | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 98 | 11. XII. 16 | Ch. Weinreich, 24 | + | + | – | $X_{19}$ – | $X_{19}$ 1 : 400 | | Ex. am 8. Krankheitst. |
| 99 | 12. XII. 16 | A. Weinreich, 14 | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 800. | $X_{19}$ 1 : 800 | | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 100 | 19. XII. 16 | B. Weinreich, 50 | + | + | – | $X_{19}$ – | $X_{19}$ 1 : 6000 | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 101 | 20. XII. 16 | B. D., 40 | – | | – | $X_{19}$ 1 : 50 | $X_{19}$ 1 : 3000 | $X_{19}$ 1 : 3000 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 102 | 4. XII. 16 | J. D., 56 | + | | – | | $X_{19}$ 1 : 1600 | $X_{19}$ 1 : 400 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 103 | 5. XII. 16 | A. P., 41 | + | + | | $X_{19}$ 1 : 50 | $X_{19}$ 1 : 1600 | $X_{19}$ 1 : 12000 | ,, ,, ,, ,, ,, |



| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 104 | 4. XII. | 16 | I. R., 8 . . . . . . | + | + | – | $X_2$ 1 : 50<br>$X_{19}$ – | $X_2$ 1 : 800<br>$X_{19}$ 1 : 400 | <br>$X_{19}$ 1 : 400 | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 105 | 11. XII. | 16 | J. Sch., 16 . . . . | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 400 | $X_{19}$ 1 : 6000 | $X_{19}$ 1 : 6000 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 106 | 5. XII. | 16 | A. O., 18. . . . . | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 1600 | $X_{19}$ 1 : 3000 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 107 | 12. XII. | 16 | B. T., 8 . . . . . | – | + | – | $X_2$ 1 : 100<br>$X_{19}$ 1 : 200 | $X_2$ 1 : 200<br>$X_{19}$ 1 : 400 | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 108 | 13. XII. | 16 | Ch. W., 24 . . . . | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 200 | $X_{19}$ 1 : 3000 | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 109 | 1. XII. | 16 | B. L., 19 . . . . | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 200 | $X_{19}$ 1 : 800 | $X_{19}$ 1 : 3000 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 110 | 1. XII. | 16 | I. H., 14 . . . . . | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 50 | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 800 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 111 | 5. XII. | 16 | K. B., 62. . . . . | + | | – | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 1600 | $X_{19}$ 1 : 400 | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 112 | 14. XII. | 16 | P. L., 16 . . . . . | + | | – | $X_{19}$ – | $X_{19}$ 1 : 100 | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 113 | 15. XII. | 16 | E. Ch., 16 . . . . | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 50 | $X_{19}$ 1 : 100 | | Ex. am 10. Krankheitst. |
| 114 | 15. XII. | 16 | I. Sch., 31 . . . . | – | | 1 : 50 | $X_2$ 1 : 100<br>$X_{19}$ 1 : 200 | | | Pat. kürzl. gegen Typh. abd. geimpft, ges. entl. |
| 115 | 17. XII. | 16 | J. Dr., 9 . . . . . | – | + | 1 : 50 | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 3000 | | Kurze Fieberper., leichter Verlauf, gesund entl. |
| 116 | 20. XII. | 16 | S. R., 28 . . . . | + | | – | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 6000 | | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 117 | 9. XII. | 16 | F. W., 32 . . . . | + | + | 1 : 200 | <br>$X_{19}$ – | Widal 1 : 100<br>$X_{19}$ 1 : 200 | | Häm. Exanth., s. schw. Verl., geg. Typh. abd. geimpft, gesund entlass. |
| 118 | 13. XII. | 16 | L. T., 25 . . . . | + | | – | $X_{19}$ – | $X_{19}$ 1 : 1600 | | Klinisch typischer Verl. |
| 119 | 18. XII. | 16 | M. L., 10 . . . . | + | | 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 1600 | | Klin. typ. Verl., Pat. hat vor 8 Woch. Typh. abd. durchgemacht, ges. entl. |
| 120 | 20. XII. | 16 | C. B., 34 . . . . | + | | – | $X_{19}$ 1 : 50 | $X_{19}$ 1 : 6000 | | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 121 | 23. XII. | 16 | E. B., 40. . . . . | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 100 | | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 122 | 24. XII. | 16 | R. B., 22 . . . . | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 200 | $X_{19}$ 1 : 3000 | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 123 | 25. XII. | 16 | A. K., 38. . . . . | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 1600 | | ,, ,, ,, ,, ,, |
| 124 | 2. I. | 17 | L. L., 17 . . . . | + | + | – | $X_2$ 1 : 200<br>$X_{19}$ 1 : 100 | <br>$X_{19}$ 1 : 400 | | ,, ,, ,, |
| 125 | 3. I. | 17 | B. Dr., 18 . . . . | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 100 | $X_{19}$ 1 : 6000 | | ,, ,, ,, |
| 126 | 7. I. | 17 | A. B., 5 . . . . . | – | – | – | $X_{19}$ 1 : 400 | $X_{19}$ 1 : 400 | | ,, ,, ,, |
| 127 | 7. I. | 17 | S. Sch., 42 . . . . | + | + | – | $X_{19}$ 1 : 200 | | | ,, ,, ,, |
| 128 | 8. I. | 17 | P. H., 18 . . . . | + | + | – | $X_2$ 1 : 50<br>$X_{19}$ – | $X_2$ –<br>$X_{19}$ 1 : 800 | | ,, ,, ,, |
| 129 | 10. I. | 17 | M. K., 28 . . . . | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 400 | | ,, ,, ,, |
| 130 | 10. I. | 17 | A. G., 12 . . . . | – | + | – | | $X_{19}$ 1 : 1600 | | ,, ,, ,, |
| 131 | 12. I. | 17 | R. K., 15. . . . . | + | + | – | | $X_{19}$ 1 : 800 | | ,, ,, ,, |



Tabelle I. (Fortsetzung.)

| Nr. | Tag der Aufnahme | Name und Alter in Jahren | Ex-anthem | Diazo | Widal | Weil-Felixsche Reaktion am 2. bis 4. Krankheitstage | 7. bis 11. Krankheitstage | 14 Tage nach der Entfieberung | Anmerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 132 | 12. I. 17 | W. K., 7 . . . . | – | – | – | | $X_{19}$ 1 : 400 | | Klin. typ. Verl., ges. entl. |
| 133 | 12. I. 17 | F. Sch., 17 . . . . | + | | – | | $X_{19}$ 1 : 800 | | ,, ,, ,, |
| 134 | 23. I. 17 | A. Sch., 27 . . . | + | | – | | $X_{19}$ 1 : 800 | $X_{19}$ 1 : 400 | ,, ,, ,, |
| 135 | 19. I. 17 | H. T. . . . . | – | + | – | $X_2$ 1 : 50<br>$X_{19}$ 1 : 100 | $X_2$ 1 : 200<br>$X_{19}$ 1 : 200 | | ,, ,, ,, |

Tabelle I. (Schluß.) Fälle älteren Datums.

| Nr. | Tag der Erkrankung | Tag d. Blutentnahme | Name und Alter in Jahren | Weil-Felix $X_2$ | Weil-Felix $X_{19}$ | Anmerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 136 | 30. X. 16 | 30. XII. 16 | W. A., 9 . . . . | – | 1 : 50 | d. i. 2 Mon. nach d. Erkrank.; höchster Titer 1 : 100. |
| 137 | 26. X. 16 | 30. XII. 16 | L. B., 42 . . . . | – | 1 : 800 | Ebenso; höchster Titer 1 : 800. |
| 138 | 23. I. 17 | 26. III. 17 | A. S., 27 . . . . | – | 1 : 400 | ,, ,, ,, 1 : 100 |
| 139 | 21. IX. 16 | 30. XII. 16 | F. W., 7 . . . . | – | 1 : 100 | d. i. 3 Mon. nach d. Erkrank.; höchster Titer 1 : 100. |
| 140 | 8. I. 17 | 26. IV. 17 | A. G., 12 . . . . | – | negativ | Ebenso; höchst. Titer 1 : 1600. |
| 141 | 23. I. 17 | 26. IV. 17 | A. S., 27 . . . . | – | 1 : 100 | ,, ,, ,, 1 : 800. |
| 142 | 8. XII. 16 | 26. III. 17 | F. W., 32 . . . . | – | 1 : 100 | ,, ,, ,, 1 : 200. |
| 143 | unbekannt | 26. IV. 17 | M. S., 20 . . . . | – | 1 : 50 | angebl. 4 Mon. nach d. Erkr. |
| 144 | 5. I. 16 | 28. XII. 16 | R. P., 23 . . . . | – | 1 : 50 | d. i. 12 Mon. nach d. Erkrank. |
| 145 | 3. VIII. 15 | 28. XII. 16 | H. V., 20 . . . . | – | 1 : 50 | ,, 17 ,, ,, ,, ,, |

Tabelle II.

| Nr. | Tag der Aufnahme | Tag d. Blutentnahme | Name u. Alter in Jahren | Diagnose | Weil-Felix $X_2$ | Weil-Felix $X_{19}$ | Anmerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 6. X. 16 | 9. X. 16 | B. H., 45 | Typh. abd. | neg. | neg. | |
| 2 | 9. X. 16 | 10. X. 16 | Th. B., 38 | ,, | ,, | ,, | Widal 1:200. |
| 3 | 8. X. 16 | 12. X. 16 | H. W., 14 | ,, | ,, | ,, | ,, 1:100. |
| 4 | 26. VIII. 16 | 31. VIII. 16 | R. G., 18 | ,, | ,, | ,, | ,, 1:200. |
| 5 | 13. X. 16 | 13. X. 16 | I. L., 57 | ,, | ,, | ,, | ,, 1:200. |
| 6 | 22. X. 16 | 24. X. 16 | M. L., 16 | ,, | ,, | ,, | ,, 1:400. |
| 7 | 26. X. 16 | 27. X. 16 | P. U., 13 | ,, | ,, | ,, | ,, 1:800. |
| 8 | 22. X. 16 | 10. XI. 16 | L. V., 11 | ,, | ,, | ,, | ,, 1:200. |
| 9 | 12. XI. 16 | 18. XI. 16 | M. K., 36 | ,, | ,, | ,, | ,, 1:400. |
| 10 | 20. XI. 16 | 25. XI. 16 | M. H., 7 | ,, | | ,, | ,, 1:100. |
| 11 | 30. XI. 16 | 1. XI. 16 | A. Z., 12 | ,, | ,, | ,, | ,, 1:800. |
| 12 | 17. I. 17 | 21. I. 17 | A. R., 27 | ,, | ,, | ,, | ,, 1:200. |
| 13 | 13. X. 16 | 14. X. 16 | M. K., 6 | Pneumonie | ,, | ,, | |
| 14 | 20. X. 16 | 21. X. 16 | M. S., 43 | ,, | ,, | ,, | |
| 15 | 22. XI. 16 | 25. XI. 16 | S. T., 43 | ,, | ,, | ,, | |
| 16 | 28. XI. 16 | 29. XI. 16 | I. S., 31 | ,, | ,, | ,, | |
| 17 | 2. XII. 16 | 3. XII. 16 | P. J., 64 | ,, | ,, | ,, | |
| 18 | 14. XII. 16 | 15. XII. 16 | F. Ch., 14 | ,, | ,, | ,, | |
| 19 | 22. XII. 16 | 24. XII. 16 | M. K., 68 | ,, | ,, | ,, | |
| 20 | 25. XII. 16 | 26. XII. 16 | J. K., 65 | ,, | ,, | ,, | |
| 21 | 30. XII. 16 | 31. XII. 16 | Fr. G., 65 | ,, | ,, | ,, | |
| 22 | 30. XII. 16 | 1. I. 17 | A. L., 36 | ,, | ,, | ,, | |
| 23 | 5. I. 17 | 7. I. 17 | N. M., 24 | ,, | ,, | ,, | |
| 24 | 10. I. 17 | 12. I. 17 | F. Z., 56 | ,, | ,, | ,, | |
| 25 | — | 22. X. 16 | M. K., 60 | Miliartuberk. | ,, | ,, | Die Blutentnahme erfolgte im hohen Fieberstadium. |
| 26 | — | 29. XI. 16 | Fr. B., 55 | Tbc. pulm. | 1:50 | ,, | Ebenso. |
| 27 | — | 3. XII. 16 | J. F., 65 | ,, | neg. | ,, | ,, |
| 28 | — | 8. XII. 16 | O. H., 8 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 29 | — | 18. XII. 16 | W. G., 6 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 30 | — | 22. XII. 16 | M. G., 12 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 31 | — | 30. XII. 16 | M. S., 19 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 32 | — | 3. I. 17 | O. K., 3 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 33 | — | 3. I. 17 | H. K., 7 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 34 | — | 22. III. 17 | G. D., 19 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 35 | — | 16. IV. 17 | W. P., 35 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 36 | — | 5. IV. 17 | P. T., 69 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 37 | 1. I. 17 | 3. I. 17 | H. K., 10 | Morbilli | ,, | ,, | |
| 38 | 19. XII. 16 | 3. I. 17 | M. B., 3 | ,, | ,, | ,, | |
| 39 | 32. XII. 16 | 3. I. 17 | W. G., 5 | ,, | ,, | ,, | |
| 40 | 31. XII. 16 | 3. I. 17 | M. M., 4 | ,, | ,, | ,, | |
| 41 | 31. XII. 16 | 3. I. 17 | P. D., 9 | ,, | ,, | ,, | |
| 42 | 30. XII. 16 | 3. I. 17 | M. B., 7 | ,, | ,, | ,, | |
| 43 | 30. XII. 16 | 3. I. 17 | V. T., 10 | ,, | ,, | ,, | |
| 44 | 30. XII. 16 | 3. I. 17 | O. B., 5 | ,, | ,, | ,, | |
| 45 | 31. XII. 16 | 3. I. 17 | M. M., 2 | ,, | ,, | ,, | |
| 46 | 1. I. 17 | 3. I. 17 | I. F., 4 | ,, | ,, | ,, | |
| 47 | 28. XII. 16 | 3. I. 17 | P. P., 12 | ,, | ,, | ,, | |
| 48 | 4. I. 17 | 7. I. 17 | M. T., 12 | ,, | ,, | ,, | |
| 49 | 7. X. 16 | 13. X. 16 | L. L., 9 | Scarlatina | ,, | ,, | |
| 50 | 11. X. 16 | 13. X. 16 | J. B., 5 | ,, | ,, | ,, | |

Tabelle II. (Fortsetzung.)

| Nr. | Tag der Aufnahme | Tag d. Blutentnahme | Name u. Alter in Jahren | Diagnose | Weil-Felix $X_2$ | Weil-Felix $X_{19}$ | Anmerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 51 | 6. X. 16 | 13. X. 16 | M. B., 3 | Scarlatina | neg. | neg. | |
| 52 | 4. X. 16 | 13. X. 16 | Sch. S., 8 | ,, | ,, | ,, | |
| 53 | 2. X. 16 | 13. X. 16 | F. W., 7 | ,, | ,, | 1:800 | Rek. nach Typh. exanth., s. Tab. I, Nr. 15. |
| 54 | 11. X. 16 | 13. X. 16 | R. K., 14 | ,, | ,, | neg. | |
| 55 | 10. X. 16 | 13. X. 16 | J. P., 11 | ,, | ,, | ,, | |
| 56 | 12. X. 16 | 13. X. 16 | S. S., 9 | ,, | ,, | ,, | |
| 57 | 11. IX. 16 | 13. X. 16 | A. S., 26 | ,, | ,, | ,, | |
| 58 | 5. XII. 16 | 20. XII. 16 | S. F., 6 | ,, | ,, | ,, | |
| 59 | 27. XII. 16 | 28. XII. 16 | J. B., 6 | ,, | ,, | ,, | |
| 60 | 29. XII. 16 | 3. I. 17 | M. C., 3 | ,, | ,, | ,, | |
| 61 | 1. I. 17 | 3. I. 17 | M. P., 12 | ,, | ,, | ,, | |
| 62 | 1. I. 17 | 3. I. 17 | M. P., 6 | ,, | ,, | ,, | |
| 63 | 22. XII. 16 | 3. I. 17 | J. B., 5 | ,, | ,, | ,, | |
| 64 | 30. XII. 16 | 3. I. 17 | M. B., 2 | ,, | ,, | ,, | |
| 65 | 17. XII. 16 | 3. I. 17 | M. J., 7 | ,, | ,, | ,, | |
| 66 | 30. XII. 16 | 3. I. 17 | P. H., 9 | ,, | ,, | ,, | |
| 67 | 30. XII. 16 | 1. I. 17 | W. J., 4 | Variola | ,, | ,, | Die Blutentnahme erfolgte i. d. ersten Tagen d. Erupt.-Periode |
| 68 | 31. XII. 16 | 31. XII. 16 | W. L., 6 | ,, | ,, | ,, | Ebenso. |
| 69 | 31. XII. 16 | 31. XII. 16 | J. P., 4 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 70 | 30. XII. 16 | 1. I. 17 | H. T., 12 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 71 | 30. XII. 16 | 31. XII. 16 | A. M., 4 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 72 | 30. XII. 16 | 31. XII. 16 | J. R., 4 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 73 | 31. XII. 16 | 1. I. 17 | O. Ch., 2 | Variolois | ,, | ,, | ,, |
| 74 | 24. XII. 16 | 1. I. 17 | H. B., 25 | Variola | ,, | ,, | ,, |
| 75 | 30. XII. 16 | 31. XII. 16 | J. R., 4 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 76 | 30. XII. 16 | 2. I. 17 | N. M., 11 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 77 | 1. I. 17 | 3. I. 17 | M. C., 2 | Variolois | ,, | ,, | ,, |
| 78 | 30. XII. 16 | 2. I. 17 | W. Sz., 4 | Variola | ,, | ,, | ,, |
| 79 | 31. XII. 16 | 2. I. 17 | H. R., 7 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 80 | 31. XII. 16 | 2. I. 17 | I. B., 15 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 81 | 30. XII. 16 | 2. I. 17 | I. H., 4 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 82 | 1. I. 17 | 2. I. 17 | E. M., 15 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 83 | 1. I. 17 | 2. I. 17 | I. L., 4 | Variolois | ,, | ,, | ,, |
| 84 | 1. I. 17 | 2. I. 17 | W. D., 5 | Variola | ,, | ,, | ,, |
| 85 | 9. I. 17 | 11. I. 17 | J. M., 60 | ,, | ,, | ,, | ,, |
| 86 | 15. X. 16 | 18. X. 16 | J. W., 43 | Malaria | ,, | ,, | |
| 87 | 8. IV. 17 | 18. IV. 17 | R. B., 19 | ,, | ,, | ,, | |
| 88 | 1. IV. 17 | 18. IV. 17 | H. J., 20 | Sepsis | ,, | ,, | |
| 89 | 10. III. 17 | 13. III. 17 | I. D., 6 | Otitis media | ,, | ,, | |
| 90 | 10. I. 17 | 12. I. 17 | G. D., 19 | Gonorrhöe | ,, | ,, | |
| 91 | 28. XII. 16 | 30. XII. 16 | A. B., 46 | Phlegmone | ,, | ,, | |
| 92 | 20. XII. 16 | 23. XII. 16 | L. P., 12 | Angina lac. | ,, | ,, | |
| 93 | — | 20. X. 16 | M. R., 43 | — | ,, | ,, | Gesund. |
| 94 | — | 28. X. 16 | N. T., 8 | — | ,, | ,, | ,, |
| 95 | — | 28. X. 16 | M. H., 7 | — | ,, | ,, | ,, |
| 96 | — | 10. XI. 16 | T. O., 29 | — | ,, | ,, | ,, |
| 97 | — | 10. XI. 16 | K. F., 6 | — | ,, | ,, | ,, |

Tabelle II. (Schluß.)

| Nr. | Tag der Aufnahme | Tag d. Blutentnahme | Name u. Alter in Jahren | Diagnose | Weil-Felix | | Anmerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | $X_2$ | $X_{19}$ | |
| 98 | — | 13. XI. 16 | K. K., 76 | — | neg. | neg. | gesund |
| 99 | — | 18. XI. 16 | Z. V., 17 | — | ,, | ,, | ,, |
| 100 | — | 25. XI. 16 | Z. V., 51 | — | ,, | ,, | ,, |
| 101 | — | 12. XII. 16 | O. B., 21 | — | ,, | ,, | ,, |
| 102 | — | 1. I. 17 | H. F., 7 | — | ,, | ,, | ,, |
| 103 | — | 1. I. 17 | M. F., 14 | — | ,, | ,, | ,, |
| 104 | — | 2. I. 17 | St. K., 5 T. | — | ,, | ,, | Am 10. Krankhtg. der Mutt. (Typhus exanth. s. Tab. I, Nr. 123) geboren. |
| 105 | — | 12. I. 17 | L. B., 9 | — | ,, | ,, | Gesund. |
| 106 | — | 18. III. 17 | F. K., 13 | — | ,, | ,, | ,, |
| 107 | — | 22. III. 17 | J. B., 1 | — | ,, | ,, | Säugling ein. fleckfieberkrank. Mutt. |
| 108 | — | 31. III. 17 | St. B., 5 | — | ,, | ,, | Gesund. |
| 109 | — | 31. III. 17 | W. P., 13 | — | ,, | ,, | ,, |
| 110 | — | 27. III. 17 | J. R., 1/2 | — | ,, | ,, | Säugl. einer fleckfieberkr. Mutter. |
| 111 | — | 5. IV. 17 | W. L., 17 | — | ,, | ,, | |
| 112 | — | 12. IV. 17 | A. St., 25 | — | ,, | ,, | |

[Aus dem Chemisch-Bakteriol. Laboratorium in Warschau.]
(Vorstand: Dr. St. Serkowski.)

# Otitis purulenta media.
## Nekrose des Hammers.
## Bacillus necroseos im Sekret.

Von

**Theodor Heryng.**

Im Januar d. J. konsultierte mich das 17jährige Frl. S. wegen chronischer Eiterung aus dem rechten Ohr, beträchtlicher Schwerhörigkeit, Sausen und Pulsieren im Ohr.

Das Leiden hält seit 12 Jahren an; ist nach Masern ausgebrochen: hatte bereits mehrere Rückfälle.

Laut mir vom Kollegen Kuczyński verbindlichst erteilten Notizen waren die Änderungen am 7. VII. 1906 die folgenden: eine ziemlich große zentrale Perforation des Trommelfells; eitriger Ausfluß; Schwerhörigkeit. Nach 16 Monaten erfolgte Heilung. Im September 1911 — Rückfall. Sausen im rechten Ohr, ein Gefühl von Verstopfung und Schwerhörigkeit. Keine Eiterung. Beiderseitiger Tubenkatarrh. Nach Anwendung des Politzerschen Verfahrens sind diese Erscheinungen verschwunden. Ein Rückfall von Tubenkatarrh fand wieder im Jahre 1912 statt und verschwand nach entsprechender Behandlung.

Die im Januar d. J. untersuchte Patientin gibt an, daß das gegenwärtige Leiden seit zwei Jahren besteht, von reichlicher Sekretion aus dem rechten Ohr, Sausen und starker Schwerhörigkeit begleitet wird.

Die Kranke ist blutarm, erblich unbelastet, gut entwickelt. Die inneren Organe zeigen keinerlei Änderungen. Funktionen normal. Spärliche Menstruation. Die Untersuchung des rechten Ohres ergab eine ungewöhnliche Färbung des Sekrets im äußeren Gehörgange. Der Eiter war wässerig, nicht übelriechend, braun gefärbt. Er stammte vom mittleren Ohr und überdeckte den vorder-unteren Abschnitt des Trommelfells.



Nach Reinigung des äußeren Ganges vermittelst Gazetampons, fand ich im hinteren-unteren Abschnitte des Trommelfells eine große, 1/3 des Trommelfells einnehmende Perforation; durch dieselbe sieht man die blaßrote Trommelhöhle und einen Teil des Amboß. Die Sonde ergibt keine karietischen Änderungen. Im vorder-unteren Abschnitte wurde eine kleinere Perforation konstatiert. Die Sonde weist eine Nekrose des Hammers nach, dessen unterer Teil mit roten Granulationen und Ekchymosen bedeckt ist. Durch Destruktion der Ligamente steht der Malleus beinahe senkrecht. Er ist gegen Druck der Sonde schmerzhaft. Im inneren Gehörgang sind keine Änderungen wahrzunehmen. Der Warzenfortsatz ist bei Druck nicht schmerzhaft. Die Patientin vernimmt das Ticken der Uhr in einer Entfernung von 5 cm; Flüstersprache wird bei 1·5 m vernommen. Weber an der kranken Seite. Rinne +. Zurzeit sind weder Labyrintherscheinungen noch Sausen oder Schwindel zu beobachten. Nase und Pharynx normal. Linkes Ohr gesund.

Die Behandlung bestand zunächst im Entfernen des Sekrets vermittelst Gazetampons, in Einblasen von Jodoformogen mit Borsäure und wiederholter Anwendung des Siegelschen Aspirators. Um das Granulationsgewebe zu zerstören, habe ich dreimal, in längeren Abständen, eine konzentrierte Lösung von Trichloressigsäure benutzt, indem ich mit derselben die Spitze einer silbernen Sonde anfeuchtete. Dies Verfahren führte ein lebhaftes, beinahe eine halbe Stunde anhaltendes Schmerzgefühl herbei. Die Besserung war ausgesprochen, doch hielt sie nicht lange an. Erst nach einigen Monaten (im Mai) wurde die Sekretion spärlicher, und Mitte Juni hörte dieselbe fast gänzlich auf.

Indes schreitet die Vernarbung der Perforation nur ganz langsam vor. Granulationsgewebe spärlicher. Die Sonde weist keine Entblößung des Hammers nach. Geringe Defekte neben dem Annulus tympanicus. Die Schleimhaut des Mittelohrs — blaß. Am 7. VII. konnte beinahe gänzliche Vernarbung festgestellt werden.

Die Patientin wurde auch von meinen Kollegen M. Hertz und Kuczyński untersucht.

Die von Dr. Serkowski vorgenommene mikroskopische Untersuchung des unmittelbar von sterilisierten Gazetampons aufgenommenen Ohrsekrets zeigte reichliche Gruppen von Staphylococcus albus und Tetragenes, sowie auch spärlichere, lange, schmale Bazillen, deren Inhalt nicht durchweg segmentiert erschien; einige enthielten Granulationen., bei Färbung mit Löfflerschem oder Neisserschem Methylenblau. Diese Bazillen waren zweimal länger als der Bac. Diphtheriae und der Granulobacillus putrificus.



Die Kulturen enthielten meistens Fadenformen von verschiedener Länge, einige derselben waren länger als der Durchmesser des Gesichtsfeldes. Sie zeigten keine dichotomischen Verästelungen, hatten die Gestalt von homogenen, kleinen, runden, in granulösem Protoplasma eingelagerten Körnchen. Färbung mit der Pikrinmethode zeigte kleinere Polkörperchen, sowie auch größere, ovale, in verschiedenen Abständen eingelagerte, stark gefärbte Körnchen.

Wir hatten es hier mit einer Form zu tun, die von Salomonsen beschrieben und als Bacillus necroseos, von Löffler als Bacillus necrophorus bezeichnet wurde. Dieser Bacillus gehört zu den Fadenpilzen, ist fakultativ anaerob, gedeiht auf Serumagar bei 30 bis 40 °C. Auf Agar geimpft, entwickelt er Gasproduktion. Er wächst weder in Bouillon noch auf Agar, oder auf bloßem Serum. Die reinen, anaeroben Plattenkulturen sind matt, radiär angeordnet, von scharfen Umrissen, braun gefärbt; sie bestehen aus verfilzten Fäden von ungleicher Länge. Der Bacillus ist äußerst widerstandsfähig. Er erträgt eine Temperatur bis 95 ° C (kurze Zeit). Seine Vitalität und Virulenz vermag er bis 18 Wochen beizubehalten. Bei anaerobem Verfahren wird als Nährboden konzentrierter Zuckeragar mit Ochsenserum benutzt, und zwar in einem Verhältnis, welches dem von Lewkowicz für den Bacillus fusiformis vorgeschlagenen Substrat analog ist.

Der besprochene Bacillus färbt sich am besten mit der von Claudius angegebenen Pikrinmethode (Methylviolett, darauf konzentrierte Wasserlösung von Pikrinsäure mit Alkohol). Er wird mit Gram entfärbt. Die üblichen wässerigen Farbstoffe färben ihn schwach und ungleichmäßig.

Zwar gibt die Jensensche Methode gute Resultate bei Färbung der Gewebe, doch ist dieselbe etwas kompliziert. Sie eignet sich mehr für den Bacillus necroseòs (Färbung mit Safranin, Entfärbung mit Fluoreszein. Gegenfärbung mit Methylgrün). Die Bazillen färben sich rot, das Gewebe grün. Jene stärker gefärbten (metachromatischen) Körperchen scheinen mit Teilungsvorgängen des Kerns in Verbindung zu stehen. Löffler fand sie in Kulturen von Bac. diphtheriae, die er mit Methylenblau färbte. Sie sind jedoch nicht spezifisch für Diphtherie. Sie sind deutlich wahrnehmbar durch Doppelfärbung mit Löfflerschem Blau und Gegenfärbung mit Vesuvin, ebenfalls nach dem Neisserschen Verfahren.

Die besprochenen Körnchen sind in jungen, mehrstündigen Kulturen als Kernteilung aufzufassen (Karyokinese), wie dies Douglas und Distaso in ihrer klassischen Abhandlung über Bakterienkerne festgestellt haben. Die von diesen Forschern beigefügten Abbildungen sind besonders überzeugend.[1] Die erwähnten Forscher haben nachgewiesen, daß die meisten

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. LXIII u. LXVI.



Bazillen ein Gebilde besitzen, dessen Verhalten Farbstoffen gegenüber, ihrer Evolution und Involution nach die gleichen sind, als diejenigen der Kerne von pflanzlicher und tierischer Abstammung.

Wie Dobell nachgewiesen, besitzen Pneumo- und Gonokokken ebenfalls Kerne. Das, was bisher für Kerne gehalten wurde, war ein Chromoidalnetz, d. h. eine Degeneration des Kerns. Die Untersuchung sehr junger Kulturen liefert überzeugende Beweise.

Was die Biologie des Bacillus necroseos betrifft, so ist derselbe zuerst von Robert Koch beschrieben worden, welcher ihn in einer Hornhautulzeration beim Schaf nachgewiesen hat. Löffler hat ihn beobachtet,



nachdem er das Auge eines Kaninchens mit Syphilis inokulierte. Die an dieser Stelle angegebenen Befunde entnehme ich der vortrefflichen Abhandlung von Jensen über „die durch Bacillus necroseos herbeigeführten Erkrankungen" (Kolle-Wassermann Bd. VI).

Der Bacillus necroseos ist bei verschiedenen nekrotischen Vorgängen, und zwar sowohl bei lokalen als auch in diffusen Entzündungsprozessen nachgewiesen worden, fast ausnahmslos bei Säugetieren. Derselbe wurde bei Steppenvieh, bei Schafen, Ziegen, Hirschen, Pferden, Schweinen und bei Kaninchen beobachtet. Dieser Bacillus ist Säugetieren gegenüber stark pathogen, befällt mitunter nur einzelne Organe, wie Klauen, Schnauze, Maul; er gesellt sich zu eitrigen Entzündungsvorgängen der Haut und des





Bindegewebes als Komplikation bei Lymphangitis und bei Thrombosis. Mitunter begleitet er die Diphtherie, führt tiefgreifende, nicht selten tödliche nekrotische Veränderungen, Ulzerationen, Zerfall herbei. Löffler hat bei Kälbern diphtheritische Ulzerationen von Maul, Magen oder Darm beobachtet, die Bac. necroseos enthielten.

Entzündungsprozesse der Haut und des subkutanen Bindegewebes, zirkumskripte oder diffuse nekrotische Herde entstehen zuweilen epidemisch unter dem Einfluß von Symbiose mit anderen Bakterienarten und bei Beteiligung des Bacillus necrophorus. Beim Vieh entstehen Klauen- oder Steißentzündungen; bei Kühen wird das Euter oder die Vagina befallen. Mitunter erzeugt der Bacillus nekrotische Herde (Brandpocken). Die hier besprochenen Vorgänge führen öfters zu Thrombosen in Lungen, Herz, Milz und Nieren und haben einen tödlichen Ausgang.

Subkutane Impfungen des Ohres rufen bei Kaninchen Phlegmone am ganzen Kopf und Rücken hervor und pflegen meistens mit Thrombosen auszulaufen. Bei den oberhalb des Schwanzes inokulierten Mäusen übergreift dieser Prozeß rasch auf die Lendengegend. Der Bacillus necroseos vermag jegliche Wunden zu infizieren, wie z. B. nach Ulzerationen.

Er wurde im Darm von Pflanzenfressern nachgewiesen, von wo er mit Fäces und mit Dünger übertragen wird.

Die Untersuchung der befallenen Gewebe zeigte an Schnittpräparaten eine spezifische Anordnung dieses Bacillus. In den oberen Schichten fehlt derselbe gänzlich; dagegen an der Grenzlinie des nekrotischen Prozesses wurde er zahlreich vorgefunden. Die Stäbchen waren einander parallel, dem lebenden Gewebe gegenüber senkrecht angeordnet. Obige Anordnung zeigt, daß die Tätigkeit dieser Bazillen in der Ausscheidung einer toxischen, die Gewebe zerstörenden Substanz besteht.

Der besprochene Bacillus ist wenig lebensfähig; nach einiger Zeit geht er zugrunde und wird durch Fäulnisbazillen ersetzt. Auch die Reinkulturen sind von kurzer Dauer. Bis zurzeit konnte eine erworbene Resistenz nicht festgestellt werden. Nach Angaben von Bahr und Bosse sollen intravenös mit Reinkulturen inokulierte Ziegen immunisierendes Serum liefern. Die an Hunden, Katzen, Hühnern, Tauben ausgeführten Impfungen gaben negative Resultate.

Bisher fehlen noch genaue Angaben, ob der Bacillus necroseos für den Menschen pathogen ist.

Schmorl berichtet über zwei Fälle von Infektion mit Bacillus necroseos. Mit Reinkulturen dieses Bazillus beschäftigt hat er sich zufällig infiziert. Am Finger bildete sich ein kleiner Abszeß, dessen Sekret, neben Eiterkokken, auch den Bacillus necroseos enthielt.





Das gleiche ereignete sich auch mit dem Diener, dem die Fütterung der im Schmorlschen Laboratorium inokulierten Tiere übertragen war.

Ellermann konstatierte den Bacillus necroseos bei einem 9monatlichen, mit diphtheritischer Auflagerung am Zäpfchen befallenen Kinde. Das Kind starb nach einigen Tagen. Da aber Ellermann weder Impfungen noch Kulturen ausgeführt hat, so entbehrt diese Beobachtung hinreichender Beweise.

Wie es scheint, pflegt der Bacillus necroseos beim Menschen nicht selten vorzukommen — sowohl in infizierten Wunden wie bei Panaritien, oder bei Scharlachauflagerungen (Jensen).

In der mir zugänglichen Literatur konnte ich bisher keine Befunde über den Nachweis dieses Bacillus in der eitrigen, braun gefärbten Sekretion des Mittelohrs vorfinden. Färbung des aus dem Ohr stammenden Sekrets ist meistens durch Schimmelpilze (Otomykosis) bedingt. Hierher gehören verschiedene Pilzarten: Aspergillus, Mucor, Penicillium, Oidium usw. Sie pflegen sich durchweg am äußeren Gehörgang einzunisten und bilden daselbst Büschel von verschiedener Größe, mitunter auch Abgüsse des Kanals, in dessen Epithel sie tief eindringen. Nur selten führen sie eine Perforation oder Eiterung herbei. (Siebenmann.)

Der Aspergillus fumigatus bildet grünliche Produkte, Aspergillus niger — schwarze, Aspergillus flavus — graugelbe.

Um die Virulenz einer Reinkultur des Bacillus necroseos kennen zu lernen, führte ich mehrere Untersuchungen aus; doch bin ich, mit Rücksicht auf deren beschränkte Zahl und kurze Beobachtungsdauer, weit davon entfernt, die Resultate zu überschätzen.

1. Einer weißen Ratte wurde subkutan am Bauch 1 ccm Bouillonkultur injiziert. Nach einigen Tagen bildete sich eine bohnengroße, bewegliche und schmerzlose Verhärtung. Die Leistendrüsen waren nicht geschwollen. Die nach 8 Tagen vorgenommene Punktion der Infiltration ergab bei anaerobem Verfahren eine Reinkultur des Bacillus necroseos. Nach 12 Tagen erfolgte eine Resorption des Infiltrates. Der Allgemeinzustand des Tieres blieb unverändert. (Temperatur im After normal.)

2. In die Bauchhöhle eines kleinen Schweinchens wurde 1 ccm Bouillonemulsion einer Reinkultur des Bac. necroseos injiziert. Nach 10 Tagen zeigte der Zustand des Schweinchens keinerlei Änderungen.

3. Einem mittelgroßen Meerschweinchen wurde subkutan 1 ccm Bouillonkultur des Bac. necroseos injiziert. Bis zurzeit sind weder Infiltration, noch allgemeine Änderungen beobachtet worden.





Die Untersuchung des braunen Ohrsekrets wurde in verschiedenen Erkrankungsstadien dreimal vorgenommen, und jedesmal wurden Reinkulturen erhalten.

Sowohl die klinischen wie auch die bakteriologischen Befunde des besprochenen Falls zusammenfassend komme ich zu folgenden Schlüssen:

1. Die braune Färbung des Eiters im vorliegenden Fall wird dadurch bedingt, daß sich zu den Staphylokokken und dem Bac. tetragenes der Bacillus necroseos gesellte, dessen reine Plattenkultur in anaërob. Verhältnissen auf Zuckerserumagar braun gefärbt und auf Stichagar im Probierglas von einer Gasproduktion begleitet war.

2. Die besprochenen Kulturen zeigten eine schwache Virulenz Ratten gegenüber.

3. Bei Meerschweinchen ist weder eine lokale noch eine allgemeine Reaktion erzielt worden.

Ob die Nekrose des Hammers im vorliegenden Fall durch die Anwesenheit von Bacillus necroseos hervorgerufen war, wage ich nicht zu entscheiden.

Der gegenwärtige Beitrag entscheidet nicht die Frage, welchen Einfluß die Symbiose des Bac. necroseos mit eitererzeugenden Bakterien auf den karietischen Prozeß auszuüben vermag. Eine größere Beobachtungszahl wird wohl Aufklärung bringen, ob die Färbung des Eiters bei Otitis purulenta durch den Bac. necroseos bedingt ist.

Herrn Kollegen Serkowski drücke ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus für die Gefälligkeit, mit der er mir bei diesen Untersuchungen entgegengekommen ist.

---



# Die bakteriologische Diagnose und die Benennung der Ruhrbazillen.

Von

Priv.-Doz. Dr. **Messerschmidt** (Straßburg i. E.),
Hygieniker beim Korpsarzt des .. Korps.

Vorliegender Beitrag entstammt eigenen Beobachtungen und Untersuchungen auf den östlichen und westlichen Kriegsschauplätzen in den Jahren 1915 und 1916. Auf russisch-polnischem Gebiet befand sich mein Laboratorium[1] nacheinander in drei Städten, in denen Lazarette für Ruhrkranke etabliert waren. Das Untersuchungsmaterial konnte am Tage der Entnahme, meist nur wenige Stunden alt, verarbeitet werden. Die Kranken entstammten der Truppe, sie boten klinisch das typische Bild der Ruhr und zwar in den verschiedensten Krankheitsformen; blutig-schleimige Stühle wurden von den einen nur wenige Tage, von anderen lange Zeit entleert. Die Genesung ging oftmals schnell von statten, bei anderen führte die Krankheit nach wochenlangem schwersten Krankenlager zum Tode. Anatomisch boten die Leichen meist im Dickdarm, in einigen Fällen auch im Dünndarm das Bild schwerster Darmveränderungen, die (allerdings selten) zur Perforation geführt hatten.

Während es sich bei den beobachteten Fällen im Osten um gehäufte Einzelerkrankungen ohne den Charakter einer abgeschlossenen Epidemie handelte, wurden auf dem westlichen Kriegsschauplatz die Kranken einer ausgesprochenen — wenn auch kleineren — Epidemie in einem isolierten Lager untersucht. Letztere bot klinisch manche Besonderheiten, auf die wir nicht näher eingehen können.

Die bakteriologische Untersuchung dieser Epidemie erfolgte gemeinsam mit Herrn Stabsarzt Trautmann.

Die Diagnose auf „Ruhrbazillen" wurde folgendermaßen gestellt:

Der eingesandte, meist blutig-schleimige Stuhl wurde möglichst frisch in eine Petrischale entleert, aus ihm mittels Platinhakens einige nekrotische Schleimhautfetzen entnommen und diese gründlich in zwei weiteren Schalen

---

[1] Gehörig zum Beratenden Hygieniker einer Et.-Inspektion Generaloberarzt Dr. v. Scheurlen.



mit steriler physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Die so gesäuberten Häutchen wurden auf zwei bis drei Endoplatten fraktioniert ausgestrichen. Nach 20- bis 24stündiger Bebrütung verimpfte ich verdächtige klare, farblose Kolonien in Lackmusmolke, auf Traubenzuckerschräg- und Lackmusmannitschrägagar. Nach Beimpfung der schrägen Oberfläche stach ich mit der gleichen Nadel in den Nährboden.

Die morphologische und serologische Untersuchung von der Endoplatte unterblieb aus Gründen, die ich später ausführen werde.

Die Trennung der ruhrverdächtigen und unverdächtigen Bakterien erfolgte am nächsten Tage auf Grund kultureller Eigenschaften vor dem Ansetzen der Agglutinationsprobe.

Fehlende Vergärung des Traubenzuckers und klare, zarte Rötung der Lackmusmolke sprach bei unbeweglichen Stäbchen für Ruhrbazillen. Die Farbe des Lackmusmannitagars lenkte den Verdacht auf toxinbildende Kruse-Shiga- bzw. auf nichttoxinbildende Ruhrbazillen.

Der hängende Tropfen zur morphologischen Untersuchung wurde aus dem Kondenswasser der Agarröhrchen gemacht.

Die orientierende Agglutinationsprobe unterblieb; dagegen titrierte ich nach obiger Technik kulturell und morphologisch für Ruhr verdächtige Kulturen je nach ihrem Wachstum auf Lackmusmannitagar mit den entsprechenden Seris aus (0·8 ccm Serumverdünnung bis zum Titer, 0·2 ccm Bacterienaufschwemmung: 2 Stunden im Brutschrank und $^1/_4$ Stunde bei Zimmertemperatur). Die Beurteilung erfolgte makroskopisch bei normalen bzw. korrigierten Augen.

Die Diagnose „Ruhrbazillen" wurde also gestellt auf Grund folgender in dieser Reihenfolge geprüften Eigenschaften:

1. Typisches Wachstum auf Endoagar,
2. in Lackmusmolke, auf Traubenzuckeragar und Lackmusmannitagar,
3. unbewegliche Stäbchen,
4. Agglutinationsvermögen.

Welche Bedeutung und welchen Wert diese Eigenschaften in der Beurteilung zueinander haben, werden die weiteren Ausführungen zeigen.

Abweichend von der meist üblichen Untersuchungstechnik habe ich die orientierende Agglutination von der Endoplatte nach anfänglichen Beobachtungen bald unterlassen. Es zeigte sich nämlich, daß aus typischen ganz frischen Ruhrstühlen mehr oder minder zahlreiche für Ruhr verdächtige Kolonien wuchsen, die von keinem meiner Immunsera selbst in Verdünnungen von 1:25 (Titer etwa 3000) orientierend agglutiniert wurden. Andererseits wurden völlig uncharakteristisch wachsende Kolonien von den gleichen Seris zusammengeballt. Die Kulturen auf obigen Nähr-



böden von ersteren sowie ihr morphologisches Verhalten sprachen für Ruhrbazillen, das letzterer gegen solche.

Erst die Grubersche Reaktion erwies eine geringe, aber doch deutliche Agglutinabilität der ruhrverdächtigen Stäbchen in den Ruhrimmunseris. Nach vier bis sechs Generationen waren sämtliche Kulturen normal, d. h. bis zur Titergrenze agglutinabel geworden. Herr Geheimrat Professor Dr. Kruse hatte die Liebenswürdigkeit, dieselben nachzuprüfen und als Ruhrbazillen zu bestätigen.

Die orientierend agglutinablen Kolonien, deren weiteres kulturelles und morphologisches Verhalten gegen Ruhrbazillen sprach, büßten in weiteren Generationen mehr und mehr an Agglutinabilität ein. Die Zahl dieser paragglutinierenden Bakterien (Kuhn) war recht erheblich.

Ganz analoge Beobachtungen machten Trautmann und ich gemeinsam später auf dem westlichen Kriegsschauplatz bei einer Ruhrepidemie, die durch Lackmusmannitagar rötende Ruhrbazillen verursacht wurde.

In dem östlichen Laboratorium, dessen Leitung ich im Juli 1915 übernahm, waren bei Untersuchungen typischer Ruhrstühle vorher nur vereinzelt Ruhrbazillen gefunden. Das ließ daran denken, als Erreger der Ruhr einen bislang unbekannten Mikroorganismus anzunehmen. Die Fahndung nach einem solchen blieb ergebnislos. Dagegen gelang es mir nach obiger Technik etwa 40 Prozent der Ruhrkranken bakteriologisch zu bestätigen, und zwar bei ein- bis zweimaliger Untersuchung eines Kranken. Als Erreger wurde der Kruse-Shigabazillus gefunden.

Das Vorkommen schwer- und paraagglutinierender Bakterien veranlaßte uns, die orientierende Agglutinationsprobe zu unterlassen. Auf diese Reaktion hin aber eine Diagnose aufzubauen oder gar zu stellen — wie es von einigen Seiten empfohlen wurde — ist, wie auch Kuhn bereits ausführte, unbedingt zu verwerfen.

Es sei noch kurz hingewiesen auf das Verhalten der Beweglichkeit von Bakterien; viele bewegliche Bakterienarten neigen bei dem Wachsen auf Endoagar zur Starre. Sie erscheinen unbeweglich, zumal wenn die Platte längere Zeit außerhalb des Brutschrankes vor der Untersuchung stand. Bebrüten des hängenden Tropfens mildert die Starre. Sichere Resultate hat die Prüfung auf Beweglichkeit erst aus dem Kondenswasser der Agarröhrchen oder aus flüssigen Kulturen (mit Ausnahme von Galle!).

Wie die mehrfach vertretene Anschauung, die östliche Ruhr werde durch unbekannte Erreger verursacht, zu erklären ist, sei dahingestellt. Immerhin muß in den Veröffentlichungen auffallen, daß eine serologische Prüfung des Patientenserums nicht ausgeführt wurde. Für die durch

**Tabelle**

**Agglutinationstiter**

| Nr. | Nach Lentz Typ | Y-Sera Titer 8000 bis 10000 | | | Flexnersera Titer 8000 bis 10000 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Straßburg | K. W. A. | S. S. | Straßburg | K. W. A. | S. S. |
| 2 | Y | +1000 | +1000 | +5000 | + 500 | +2500 | +5000 |
| 3 | Y | +1600 | + 100 | 0 | — | 0 | 0 |
| 4 | Y | +1000 | + 100 | 0 | — | 0 | 0 |
| 5 | Y | +1000 | + 100 | + 100 | + 250 | + 100 | + 250 |
| 14 | Y | +1600 | + 100 | — | + 500 | + 500 | + 250 |
| 16 | Y | +1000 | + 100 | — | + 250 | + 100 | + 100 |
| 18 | Y | +1000 | + 250 | — | + 100 | + 100 | + 100 |
| 20 | Y | +1000 | + 100 | + 100 | + 250 | — | — |
| 22 | Kruse | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24 | Y | +1600 | + 100 | + 100 | + 250 | + 250 | + 250 |
| 25 | Y | +1000 | + 100 | + 100 | + 250 | + 100 | + 250 |
| 26 | Flexner | +1000 | + 100 | + 100 | + 250 | + 250 | + 250 |
| 27 | Y | +1000 | + 100 | + 100 | + 250 | + 250 | + 250 |
| 533 | Y | +1600 | + 100 | + 100 | +2500 | +2500 | +2500 |
| 420 | Flexner | +2500 | +1000 | +1000 | +1000 | +1000 | + 250 |
| 405 | Flexner | +5000 | + 500 | + 500 | + 250 | + 100 | + 100 |
| 523 | ? | + 500 | + 250 | + 250 | + 100 | + 250 | + 100 |
| S.7 | Y | + 500 | + 250 | + 100 | + 500 | + 500 | + 500 |
| 57 | Y | +1000 | + 500 | +5000 | +1000 | +1000 | — |
| 131 | Y | +5000 | +1000 | +1000 | + 500 | + 500 | + 500 |
| 171 | Y | +2500 | + 500 | +1000 | +2500 | +2500 | +1000 |
| 694 | Y | +1000 | + 500 | + 500 | +1000 | +1000 | +2500 |
| 883 | Flexner | + 100 | + 250 | + 100 | + 500 | + 100 | + 250 |
| 760 | Y | + 500 | + 250 | + 250 | +1000 | + 500 | + 250 |
| 840 | Y | +1000 | + 500 | + 500 | +1000 | +1000 | + 750 |
| 770 | Y | + 250 | + 500 | + 250 | + 100 | + 250 | + 100 |
| 989 | Flexner | +1000 | +2500 | +2500 | +5000 | +5000 | +10000 |
| 948 | Y | +2500 | +1000 | +1000 | +1000 | +1000 | + 500 |
| 984 | Y | +5000 | +1000 | +5000 | +2500 | +2500 | +5000 |
| 1050 | Flexner | + 500 | +1000 | +1000 | +1000 | +2500 | +5000 |
| 1053 | Flexner | + 500 | +1000 | + 500 | +1000 | +1000 | +2500 |
| 1098 | Y | +1000 | +1000 | — | — | +1000 | + 500 |
| 1071 | Flexner | +5000 | — | — | — | +2000 | +2000 |
| 1342 | Y | +1000 | + 500 | + 250 | — | + 200 | +1000 |
| 1694 | Y | +2500 | +1000 | +1000 | +1000 | +2500 | +1000 |
| 2544 | Y | — | +1000 | +2500 | — | +2500 | +1000 |
| S.17 | Y | +2500 | +2500 | +1000 | — | +2500 | +1000 |
| S.30 | Y | +1000 | +2500 | +1000 | — | +2500 | — |
| S.37 | Y | +2500 | + 500 | +1000 | — | +5000 | — |
| S.40 | Y | +2500 | +1000 | — | — | +5000 | — |
| 57 | Y | +2500 | +1000 | — | +1000 | — | +5000 |
| 179 | Scheckig | +5000 | +1000 | +2500 | +2500 | +2500 | — |
| 612 | Flexner | +2500 | +1000 | +1000 | +2500 | +1000 | +1000 |
| 624 | Flexner | +2500 | +1000 | +1000 | +2500 | +1000 | +1000 |
| 647 | Y | +1000 | + 500 | — | — | — | +2500 |
| 679 | Flexner | +5000 | +2500 | +1000 | +1000 | +2500 | +2500 |
| 12 | Y | +1000 | +2500 | — | — | +5000 | +2500 |
| 21 | Y | +2500 | +1000 | — | — | +5000 | +1000 |
| S.34 | Flexner | +2500 | +1000 | — | — | +2500 | +1000 |
| 582 | Y | +2500 | +2500 | +1000 | +2500 | +2500 | +1000 |
| 568 | Flexner | +2500 | +1000 | — | +1000 | +2500 | — |

I.

der **Kulturen.**

| Dysenteriesera Titer 3000 | | T. 750 | Pseudodysenteriesera (Kruse) Titer 5000 | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Kruse | K. W. A. | S. S. | Rasse D | Rasse H | Rasse A |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| +8000 | +1000 | + 750 | 0 | 0 | 0 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 100 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 100 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 100 | + 100 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 100 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | — | +5000 | +1000 | + 500 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | +1000 | +1000 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 500 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++2500 | + 500 | + 100 |
| 0 | 0 | + 100 | + 250 | +1000 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 250 | +1000 |
| 0 | 0 | + 100 | +1000 | + 100 | + 500 |
| 0 | 0 | + 250 | ++5000 | + 500 | + 500 |
| 0 | 0 | + 100 | +1000 | +1000 | ++2000 |
| 0 | 0 | + 100 | +1000 | ++5000 | + 500 |
| 0 | 0 | + 100 | + 500 | + 200 | +5000 |
| 0 | 0 | + 100 | +1000 | + 200 | + 200 |
| 0 | 0 | 0 | +1000 | + 200 | + 200 |
| 0 | 0 | — | ++5000 | + 500 | + 200 |
| 0 | 0 | + 100 | +5000 | +1000 | + 500 |
| 0 | 0 | 0 | +1000 | + 500 | +4000 |
| 0 | 0 | + 100 | +2000 | + 500 | + 500 |
| 0 | 0 | + 100 | ++5000 | + 250 | + 500 |
| 0 | — | + 100 | ++5000 | + 500 | + 250 |
| 0 | — | + 250 | ++5000 | + 500 | + 250 |
| 0 | — | + 250 | ++5000 | + 250 | + 500 |
| 0 | — | 0 | ++5000 | + 250 | + 500 |
| 0 | — | + 100 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | — | + 100 | ++5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | — | + 100 | ++5000 | + 500 | + 250 |
| 0 | 0 | + 100 | ++5000 | + 250 | + 500 |
| 0 | 0 | +1000 | +5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 250 | +5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 100 | +5000 | + 500 | + 500 |
| 0 | 0 | + 250 | +5000 | + 250 | + 500 |
| 0 | 0 | + 100 | +5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 100 | +5000 | + 250 | + 250 |
| 0 | 0 | + 100 | +5000 | + 500 | + 250 |



Tabelle

Bei wiederholtem Überimpfen im Abstand von 4 zu 4 Tagen von Lackmus-
Agglutinationsverhält

| Nr. | 1. Generation | | 2. Generation | | 3. Generation | | 4. Generation | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Wachst. | Agglut. | Wachst. | Agglut. | Wachst. | Agglut. | Wachst. | Agglut. |
| 2 | Y | Rasse D | Y | Rasse D | Y | Rasse D | Y | Rasse D |
| S.7 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 12 | Y | ,, D | Y | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| S.12 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 14 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 16 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| S.17 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 18 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 20 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 21 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 24 | Y | ,, D | Y | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| 25 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 26 | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 27 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| S.30 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| S.34 | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| S.37 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| S.40 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 57 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 131 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 141 | Y | ,, D | Y | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| 179 | ?(scheckig | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 405 | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| 420 | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| 533 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 562 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 568 | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| 612 | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| 624 | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| 647 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 694 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 760 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 770 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 679 | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| 840 | Y | ,, ? | Flexner | ,, ? | Flexner | ,, ? | Flexner | ,, ? |
| 948 | Y | ,, H | Y | ,, H | ?(scheckig | ,, H | Y | ,, H |
| 984 | Y | ,, A | Y | ,, A | Y | ,, A | Y | ,, A |
| 989 | Flexner | ,, H | Flexner | ,, H | Flexner | ,, H | Flexner | ,, H |
| 1050 | Flexner | ,, ? | Flexner | ,, ? | Flexner | ,, ? | Y | ,, ? |
| 1053 | Flexner | ,, ? | Flexner | ,, ? | Flexner | ,, ? | Flexner | ,, ? |
| 1098 | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| 1342 | Y | ,, A | Y | ,, A | Y | ,, A | Y | ,, A |

Scheckig (Tab. I): Nährboden teils rot, teils blau.

Kruse-Shigabazillen verursachte Ruhr ist in der dritten Krankheitswoche die Gruber-Widalsche Reaktion nach meinen Untersuchungen stets bis 1:100, nicht selten bis über 1:1000 deutlich positiv. Weniger günstige



II.

maltose auf Lackmusmaltose-Schrägagar wurden folgende Wachstums- und
nisse beobachtet:

| 5. Generation | | 6. Generation | | 7. Generation | | 8. Generation | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wachst. | Agglut. | Wachst. | Agglut. | Wachst. | Agglut. | Wachst. | Agglut. |
| Y | Rasse D | Y | Rasse D | Y | Rasse D | Y | Rasse D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Y | ,, – | Y | ,, D | Y | ,, – | Y | ,, D |
| Y | ,, – | Y | ,, D | Y | ,, – | Y | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, – | Y | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, – | Y | ,, D |
| Y | ,, – | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, – | Y | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, – | Y | ,, D |
| Y | ,, – | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, – | Flexner | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, – | Y | ,, D |
| Y | ,, – | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Y | ,, – | – | ,, – | – | ,, – | – | ,, D |
| Y | ,, – | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Y | ,, – | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| Flexner | ,, – | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| Y | ,, – | Y | ,, D | Y | ,, – | Y | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, – | Flexner | ,, D |
| Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, – | Flexner | ,, D |
| Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D | Flexner | ,, D |
| Flexner | ,, ? | Flexner | ,, ? | Flexner | ,, ? | Flexner | ,, ? |
| Y | ,, H | Y | ,, H | Y | ,, H | Y | ,, H |
| Y | ,, A | Y | ,, A | Y | ,, A | Y | ,, A |
| Flexner | ,, H | Flexner | ,, H | Flexner | ,, H | Flexner | ,, H |
| Y | ,, ? | Y | ,, ? | Y | ,, ? | Y | ,, ? |
| Flexner | ,, ? | Flexner | ,, ? | Flexner | ,, ? | Flexner | ,, ? |
| Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D | Y | ,, D |
| Y | ,, A | Y | ,, A | Y | ,, A | Y | ,, A |

Ergebnisse hatten die Prüfungen von Krankenseris, falls eine Infektion mit den nichttoxinbildenden Ruhrbazillen vorlag. Darauf werde ich später eingehen.



Die auf dem westlichen Kriegsschauplatz beobachtete und im Laboratorium von Herrn Geheimrat Professor Dr. Uhlenhuth untersuchte Epidemie bot klinisch und anatomisch das Bild einer schweren Ruhr. Bakteriologisch gelang die Bestätigung erst nach einigen Schwierigkeiten.

Wie bei den früher untersuchten und oben beschriebenen Ruhrfällen wuchsen auf Endoagar größere Mengen für Ruhr dringend verdächtiger Kolonien. Keine dieser Kolonien wurde aber orientierend von der Endoplatte und ebenfalls nicht von den ersten Generationen (!) auf Traubenzucker- oder Lackmusmannitagar agglutiniert. Verwendet wurden Y-, Flexner- und Kruse-Shigasera verschiedener Herkunft (Sächs. Serumwerk, Kaiser-Wilhelm-Akademie, Hygienisch-bakteriologisches Institut Straßburg [Titer 3000 bis 10000]). Kulturell und morphologisch handelte es sich um Lackmusmannitagar rötende einwandfreie Ruhrbazillen. Im Brutschrank war die Grubersche Reaktion bis etwa $^1/_{10}$ des Serumtiters positiv (vgl. Tab. 1).

Trautmann wies dann nach, daß in $^1/_{50}$ Ruhrheilserum des Sächs. Serumwerkes die isolierten Reinkulturen orientierend agglutinabel waren. Doch zeigte sich, daß bei dieser Prüfung auch zahlreiche kulturell und morphologisch nicht zur Ruhrgruppe gehörenden Bakterienarten zusammengeballt werden.

Das „polyvalente Dysenterieheilserum Shiga-Kruse" des Sächsischen Serumwerkes stammt nach brieflicher Mitteilung des Werkes von Pferden, die „mit einer recht beträchtlichen Anzahl Stämme (über 40) verschiedenster Herkunft, darunter auch zahlreiche Para- und Pseudodysenteriestämme, immunisiert wurden".

Daraus erklären sich leicht unsere agglutinatorischen Befunde, gehörten doch etwa 80 Prozent der mit Hilfe dieses Serums isolierten Kulturen nicht zu den Ruhrbazillen. Diese alle zu bestimmen, mußte aus Mangel an Zeit unterbleiben.

Die als Ruhrbazillen anzusprechenden übrigen 20 Prozent röteten sämtlich Lackmusmannitagar; Lackmusmaltoseagar wurde teils gerötet, teils blieb er blau. Wir hatten also nach Lentz eine Mischepidemie von schwer agglutinablen Y- und Flexnerbazillen. (Alte Laboratoriumskulturen waren in den gleichen Seris leicht agglutinabel.)

Die anfangs schwer agglutinablen Kulturen hatten eine weitere Besonderheit: Die Y-Stämme wurden teilweise vom Flexnerserum höher, die Flexnerkulturen vom Y-Serum höher agglutiniert.

Nach diesen anfänglichen Befunden erschien es wertvoll, die Reinkulturen neben der Prüfung mit Y- und Flexnerseris auch in den Seris



der Rassen A, H und D zu untersuchen. Diese wurden uns von Herrn Geheimrat Kruse auf unsere Bitte hin übersandt.

Die Ergebnisse der Gruberschen Reaktion, zu der als Kulturen die zweite Generation frisch isolierter Ruhrbazillen, als Serum je drei verschiedene Y-, Flexner-, Kruse-Shigasera sowie die der Rassen A, H und D (Pseudodysenterie Kruse) verwandt wurden, zeigt Tab. I.

In vorstehender Tabelle erfolgte die Bestimmung des Typs (Lentz) auf Grund des morphologischen und kulturellen Verhaltens, ohne Berücksichtigung der Agglutinabilität. Stamm 22 war eine Laboratoriumskultur, die zum Vergleich in die Untersuchungen aufgenommen war, da sich zeigte, daß die frisch isolierten Kulturen vom Shiga-Kruseserum des Sächs. Serumwerkes bis $^1/_3$ des Titers agglutinabel waren. Alle übrigen 50 geprüften Stämme wurden aus der Epidemie gezüchtet.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen erscheint besonders deshalb interessant, weil die in den üblichen Laboratoriumseris schlecht agglutinablen Kulturen von den Kruseschen Seris leicht und bis zur Titergrenze zusammengeballt wurden. Nach den anfänglichen Beobachtungen schien die Epidemie ausschließlich durch Bazillen der Rase D verursacht zu sein. Im Abklingen wurden dann aber vereinzelte A und H-Varietäten sowie einige auch durch Herrn Geheimrat Kruse (briefliche Mitteilung) in die bislang bekannten Rassen nicht einzugliedernde Pseudodysenteriestämme isoliert. Unsererseits wurde der Castellanische Absättigungsversuch nicht angestellt, da Zeit und Einrichtungen im Feldlaboratorium dazu nicht ausreichten.

Von den 50 geprüften Kulturen wurde eine Auswahl von etwa vier zu vier Tagen weitergeimpft und zwar auf Lackmusmaltoseagar. Diese 20stündigen Generationen titrierte ich regelmäßig in A-, H- und D-Seris aus; bei einigen Stämmen setzte ich daneben gleichzeitig die Grubersche Reaktion in unseren Y- und Flexnerseris an. Bei diesen mehrfach umgezüchteten Kulturen wurde die Agglutinabilität leichter und erreichte schließlich die Titergrenze. Es zeigte sich allerdings, daß drei in erster Generation zum Y-Typ, ein als Flexnertyp bestimmter Stamm vom Flexner- bzw. Y-Serum höher als vom zugehörigen agglutiniert wurde.

Die Resultate dieser Weiterzüchtungen auf Lackmusmaltoseagar sowie die Agglutinationsprüfungen in den Seris der Kruseschen Rassen zeigt Tab. II.

Von 42 Kulturen hatten 5 bei weiterer Prüfung ihren Typ geändert, davon eine bereits bei dem ersten Umzüchten. Eine Kultur war anfangs ein Typ Y, schlug dann zu Flexner um und wurde schließlich wieder ein Y-Bazillus.



Selbstverständlich wurde jedesmal, wenn eine solche „Änderung des Typs“ erfolgte, die Kultur auf Reinheit eingehend untersucht. Verunreinigungen als Ursache dieser Befunde können mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Die Agglutinabilität in den Kruseschen Seris blieb unverändert.

Nach Hiss, Lentz, Kruse, Shiga, Kutscher u. a. können längere Zeit auf künstlichen Nährböden fortgezüchtete Y-Kulturen die Fähigkeit bekommen, Maltose zu vergären, alte Flexnerstämme diese Eigenschaft verlieren. Diese Änderung des Typs in kultureller Beziehung hatte keinen Wechsel des ursprünglichen serologischen Verhaltens zur Folge. Bei frischen oder nur kurze Zeit fortgezüchteten Laboratoriumsstämmen soll nach O. Lentz das Verhalten der Typen Y und Flexner gegen Maltose sich nicht ändern. Kruse und seine Schule halten im Gegensatz zu Lentz Lackmusmaltoseagar auch zur Differenzierung der frisch isolierten, nicht Toxin bildenden Ruhrbazillen (= Pseudodysenteriebazillen) für nicht charakteristisch und daher für ungeeignet; nur das Agglutinationsvermögen der Rassen ist nach ihnen keinem Wechsel unterworfen.

Für letzteres sprechen auch unsere Untersuchungen.

Sie zeigen weiter, daß — wenn auch anscheinend selten — das Verhalten der Mannit vergärenden Ruhrbazillen gegen Maltose schon in frühen Generationen sich ändern kann. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob derartige Befunde häufiger erhoben werden. Sie wären für die zurzeit fast allgemein übliche Nomenklatur der Ruhrbazillen nach Lentz nicht ohne Bedeutung.

Unser Bestreben, die beobachtete Ruhrepidemie als durch einen einheitlichen Erreger verursacht anzusprechen, gelang weder nach Lentzscher noch nach Krusescher Nomenklatur. Sprachen auch unsere ersten Agglutinationsprüfungen dafür, daß eine einheitliche D-Epidemie vorlag, so kamen später noch H- und A-Rassen und Vertreter einiger noch nicht bekannter Varietäten hinzu.

Unsere Untersuchungen bestätigen aufs neue die außerordentliche Variationsmöglichkeit der toxinarmen bzw. -freien Ruhrbazillen und die Schwierigkeit, sie zu klassifizieren; letzteres um so mehr, wenn die Erreger in den meist gebräuchlichen Y- und Flexnerseris schwer agglutinabel sind. Die Prüfung des Krankenserums erleichtert uns die Diagnose nicht, da die Gruber-Widalsche Reaktion erst gegen Ende der zweiten Krankheitswoche, d. h. meist erst in der Rekonvaleszenz Erfolg verspricht. Wir untersuchten aus unserer Epidemie die Sera von 17 Rekonvaleszenten mit je zwei verschiedenen Y-, Flexner-, D-, A-, H- und Kruse-Shiga-

kulturen. Die Stämme waren teils aus der Epidemie isoliert, teils handelte es sich um Laboratoriumskulturen. Das Ergebnis war wenig befriedigend. Das Serum dreier Patienten, aus deren Fäces Y-Bazillen isoliert waren, agglutinierte Flexnerkulturen höher als Y-Bazillen. Nach Kruse waren die rein gezüchteten Y-Bazillen als zur Rasse D gehörig anzusprechen; das Serum agglutinierte aber eine von Herrn Geheimrat Kruse erhaltene A-Kultur höher als je eine D-Varietät gleicher Herkunft und eine solche aus der Epidemie. Ähnliche widersprechende Befunde mehrten sich, je weiter wir untersuchten.

Es gelang also auch nicht retrospektiv die Ruhrepidemie auf einen einheitlichen Erreger zu bringen. Die Lentzsche Nomenklatur teilt die Ruhrerreger in vier Typen. ,,Typisch" verhält sich aber nach vielen Untersuchungen nur der Kruse-Shigabazillus; die drei übrigen werden durch veränderliche Reaktionen abgegrenzt. Unsere Beobachtungen erwecken den Eindruck, daß dieses Wechseln des Typs nicht nur in älteren Laboratoriumskulturen vorkommt.

Die Verwandtschaft unter diesen nichttoxinbildenden Ruhrbazillen ist sehr nahe, sie alle stehen den Ruhrbazillen mit löslichen Toxinen wesentlich ferner. Das ist eine Tatsache, die durch die Lentzsche Nomenklatur nicht zum Ausdruck kommt.

Einer solchen Forderung wird die Krusesche Nomenklatur gerecht: Dysenterie-Pseudodysenteriebazillen. Gegen diese Benennung wenden sich aber viele Kliniker nicht mit Unrecht, können doch von den Pseudodysenteriebazillen — wie auch von uns beobachtet wurde — Epidemien mit ebenso hoher Mortalität verursacht werden, wie durch echte Dysenteriebazillen.

Im Gegensatz zu den Kruseschen Pseudodysenteriebazillen, die spezifisch pathogen für Menschen sind, knüpft sich bei anderen Bakterienarten an die Bezeichnung ,,Pseudo" die Apathogenität (Pseudomilzbrand, Pseudodiphtherie- usw. Bazillen).

Auch die Trennung in toxinbildende und nichttoxinbildende Ruhrbazillen gibt zu Mißverständnissen Anlaß, da vielfach die bakteriologische Bedeutung des Wortes ,,Toxin" vom Kliniker mißverstanden wird.

Andererseits ist eine sprachliche Abgrenzung zwischen beiden Arten erforderlich.

Es wäre zu begrüßen, wenn eine allgemein befriedigende Benennung der Ruhrbakterien festgelegt werden könnte und eingeführt würde. Die jetzige Vielgestaltigkeit ist höchst unangenehm.

Die Umgebung der Kranken wurde mit einem selbst bereiteten Ruhrimpfstoff schutzgeimpft. Sechs Agarkulturen von aus der Epidemie

gezüchteten Ruhrstämmen wurden in Kochsalzlösung abgeschwemmt und mit einer 0·5 prozentigen Karbolsäurelösung angesetzt. Ohne Erwärmung waren die Aufschwemmungen nach 24 Stunden steril.

Verimpft wurden 2·5, 5 und 10 Millionen Keime in drei Terminen nach je 6 Tagen.

Die Impfreaktionen waren gering, die Körperwärme stieg nie über 37·6.

Nach durchgeführter Schutzimpfung erlosch die Epidemie.

## Zusammenfassung.

Auf die Bedeutung des Vorkommens von schwer agglutinablen Ruhrbazillen und daneben von mit Ruhrseris paragglutinierenden Bakterienarten für die Erschwerung der bakteriologischen Diagnose „Ruhr“ wird an Beobachtungen auf verschiedenen Kriegsschauplätzen hingewiesen.

Der Wert der orientierenden Agglutinationsprobe ist danach sehr gering; bei ihrem positiven oder negativen Ausfall darf die kulturelle und morphologische Prüfung der verdächtigen Kolonien nicht unterlassen werden. Orientierend inagglutinable Kulturen, die für Ruhr sprechen, müssen im Brutschrank austitriert werden.

Es wäre zu wünschen, daß eine einheitliche Nomenklatur der Ruhrbazillen eingeführt würde.

Schutzimpfungen mit einer aus den Erregern der Epidemie bereiteten Vaccine hatten guten Erfolg.

Der Impfstoff wurde ohne Erwärmung lediglich durch Zusatz von 0·5 Prozent Karbolsäure bereitet.

[Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“.]

# Untersuchungen über einige neue Kresolpräparate.

Von

**F. Neufeld** und **O. Schiemann.**

Bei dem gegenwärtigen Mangel an Seife und der Knappheit mancher anderer Desinfektionsmittel würde es von erheblicher praktischer Wichtigkeit sein, ein geeignetes Ersatzmittel für Kresolseife zu finden. Aber auch abgesehen davon, erscheint die nähere Untersuchung solcher Mittel von Interesse, in denen bei einem Kresolgehalt von etwa 50 Prozent (entsprechend dem Gehalt des Lysols und der Kresolseife des Arzneibuches) die Kresole anstatt durch Seife durch andere Stoffe in Lösung gehalten werden. Bisher lagen derartige Präparate, die für die allgemeine Desinfektion geeignet wären, nicht vor; sollten sich die neuen Mittel bewähren, so würde ihre dauernde Verwendung, eine billige Herstellung vorausgesetzt, auch in Friedenszeiten in Frage kommen. Es sind daher im Institut einige solcher Mittel einer ausführlichen Prüfung unterzogen worden, über deren Ergebnisse nachstehend berichtet werden soll.

Geprüft wurden die folgenden seifefreien Kresolpräparate:

1. „Kresolseifenersatz“ der Firma Schülke & Mayr, Hamburg, sowie ein zweites, als „Betalysol“ bezeichnetes Präparat der gleichen Fabrik. Beide Mittel enthalten etwa 50 Prozent Kresol (nach einer von der Fabrik für das erste Mittel ausgegebenen Analyse von Schneider 54 Prozent) und stimmen nach Mitteilung der Fabrik in allen wesentlichen Punkten der Zusammensetzung überein; auch bei unseren Versuchen ergaben sich weder bezüglich der Wirksamkeit, noch bezüglich der Löslichkeit usw. Unterschiede. Die Mittel dürften daher als praktisch gleichwertig anzusehen sein.

2. Das von der chemischen Fabrik Merck in den Handel gebrachte „Kresotinkresol“, das nach einer von der Firma ausgegebenen Anzeige auf Veranlassung des Kriegsministeriums hergestellt wird; die Mehrzahl





unserer Versuche ist mit einer uns von der Medizinischen Abteilung des Kriegsministeriums zur Verfügung gestellten Probe ausgeführt. Das Mittel enthält 50 Gewichtsteile Kresol, das, anstatt durch Seife, durch kresotinsaures Natrium in Lösung erhalten wird; es beruht also auf dem von Hüppe angegebenen Prinzip, der die Löslichkeit des Kresols in den Salzen der Orthooxybenzoesäuren entdeckte und zur praktischen Desinfektion unter dem Namen „Solveol" ein in kresotinsaurem Natrium gelöstes Gemisch der drei isomeren Kresole mit etwa 27 Prozent Gehalt an Kresol empfahl. Das Solveol ist dann von Hammer, Hiller, Vahle, Schürmeyer, Schütz genauer untersucht worden, hat sich aber in die Praxis nicht einzuführen vermocht.

3. „Phenolut", hergestellt von der chemischen Fabrik Elkan, Berlin; es enthält nach Fiedler 40 Prozent Kresol.

Daneben wurde in einigen Versuchen ein seifenhaltiges Mittel, „Kremulsion" der chemischen Fabrik Flörsheim (Dr. Nördlinger) geprüft. Das Mittel gibt in allen Verdünnungen mit Wasser nicht eine Lösung, sondern eine Emulsion der wirksamen Bestandteile; es entspricht also dem Kreolin und teilt die bekannten Nachteile desselben gegenüber den wasserlöslichen Kresolseifenpräparaten.

Zum Vergleich stand uns bei unseren Desinfektionsversuchen eine zuverlässige, noch in Friedenszeiten hergestellte Probe von Lysol zur Verfügung. Es erschien uns von Wichtigkeit, einen derartigen sicheren Maßstab für die Beurteilung der neuen Mittel zu besitzen, da die jetzt als Lysol- oder Kresolseife noch erhältlichen Präparate kaum als vollwertig angesehen werden können.

Die Untersuchungen wurden unter dem Gesichtspunkte durchgeführt, daß ein vollkommenes Ersatzmittel für Kresolseife bzw. Lysol diese Mittel in dreierlei Hinsicht ersetzen müßte:

1. Bei der allgemeinen Desinfektion, nämlich der Desinfektion von Wäsche, Kleidern, Ausleerungen der Kranken, Fußböden usw.

2. Bei der Läusetötung (Entlausung von Wäsche, Kleidern, Stiefeln).

3. Bei der Händedesinfektion am Krankenbett.

## I. Versuche über die Desinfektionswirkung und die allgemeinen Eigenschaften der Ersatzmittel.

Die Desinfektionswirkung wurde gegenüber Staphylokokken (zwei verschieden resistente Stämme), Typhusbazillen und Colibazillen geprüft.

Alle Versuche wurden, der Praxis entsprechend, mit in Leitungswasser hergestellten Lösungen bei Zimmertemperatur angestellt; die Prozentzahlen bedeuten Volum- (nicht Gewichts-) Prozente. Vor allem wurden, um über die reine Desinfektionskraft der Mittel Auskunft zu erhalten, gut verriebene, durch Absitzenlassen von gröberen Häufchen befreite Aufschwemmungen der genannten Bakterien in Wasser, zum Teil auch in Bouillon oder Serum, dem Einfluß der Desinfizientien ausgesetzt; daneben wurden, um auch das Eindringen der Lösungen in dichte Gewebslagen zu prüfen, wollene Stoffproben mit den Bakterien getränkt und meist nach 24stündigem Trocknen, in einigen Versuchen auch in feuchtem Zustande, in die Desinfektionslösungen eingelegt. Stets wurden mehrere Mittel gleichzeitig mit derselben Kulturaufschwemmung geprüft. Nur auf diese Weise ist es möglich, wirklich vergleichbare Ergebnisse zu erhalten. Die absoluten Zahlenwerte können sich erfahrungsgemäß nicht nur dann erheblich ändern, wenn andere Bakterienstämme der gleichen Art benutzt werden, sondern dieselben Stämme schwanken in ihrer Widerstandsfähigkeit oft recht stark. Daher haben zahlenmäßige Angaben, wie sie auch heute noch vielfach üblich sind, daß z. B. ein bestimmtes Mittel in 1prozentiger Lösung Staphylokokken in einer bestimmten Zeit abtötet, nur geringen Wert.

Von den in den Protokollen wiedergegebenen Versuchen sind die in einer Tabelle zusammengefaßten jedesmal gleichzeitig mit Bakterien aus dem gleichen Kulturröhrchen angestellt, also untereinander vollkommen zu vergleichen. Der Erfolg der Desinfektion wurde durch Aussaat meist eines Tropfens der betreffenden Aufschwemmung in Bouillonröhrchen oder -kolben, in flüssigen Agar oder auf die Oberfläche von Schrägagarröhrchen festgestellt, wobei die letztere, bisher wenig benutzte Methode recht gute und gleichmäßige Resultate ergab.

Wurden mit Bakterien getränkte Stoffproben benutzt, so wurden dieselben längere Zeit in mehrfach gewechseltem sterilen Wasser ausgespült, alsdann zunächst über Agarplatten gestrichen und schließlich in Bouillon gebracht; auch hier gab die Agaroberflächenaussaat recht gute Resultate. Das Ergebnis derselben ist praktisch insofern wichtig, als daraus hervorgeht, daß da, wo noch reichliches Oberflächenwachstum eintrat, nicht etwa nur vereinzelte lebensfähige Keime in der Tiefe der Gewebsstücke übrig waren — was bei der praktischen Desinfektion meist gleichgültig sein würde —, sondern daß zahlreiche lebende Keime von den feuchten Stoffproben beim einfachen Darüberwischen abgegeben wurden.

Bekanntlich ist es oft schwierig, zu entscheiden, ob da, wo die Aussaaten steril bleiben, wirklich Abtötung erfolgt ist oder nur Entwicklungs-





hemmung vorliegt. Für das Sublimat haben Geppert und Ottolenghi durch nachträgliche Neutralisierung des Desinfiziens mittels Schwefelwasserstoff nachgewiesen, daß in den meisten Fällen, wo man früher die Abtötung der Bakterien oder Sporen für sicher erwiesen hielt, in der Tat nur Entwicklungshemmung eintritt. Für die Desinfizientien der Phenol- und Kresolgruppe besitzen wir aber bisher kein Mittel, um dieselben in ähnlicher Weise zu neutralisieren; aus allgemeinen chemischen Gesichtspunkten darf man allerdings wohl annehmen, daß die zur Entwicklungshemmung führende Nachwirkung des adsorbierten Desinfiziens bei den Kresolpräparaten eine geringere Rolle spielt als beim Sublimat. Für unsere Untersuchungen kommt jedoch dieser ganzen Frage keine große praktische Bedeutung zu. Zunächst wird in der Praxis in den meisten Fällen die Bakterienentwicklung ebenfalls da ausbleiben, wo sie in unseren Reagensglasversuchen bei den gewöhnlichen Kulturverfahren, d. h. ohne Neutralisierung des Desinfiziens, ausbleibt; außerdem handelt es sich aber bei unseren Versuchen weniger um Feststellung absoluter Werte, als um einen Vergleich zwischen verschiedenen Kresolpräparaten, bei denen wir keinen Anhaltspunkt dafür haben, daß sich bei einem derselben die Entwicklungshemmung anders bemerkbar macht als bei den anderen.

Da alle in Rede stehenden Mittel nur durch ihren Gehalt an Kresolen wirken, so war von vornherein zu erwarten, daß sie gegenüber verschiedenen Bakterienarten sich relativ etwa gleich wirksam erweisen und in dem zeitlichen Verlauf ihrer Wirkung keine grundsätzlichen Verschiedenheiten zeigen würden; das war in der Tat der Fall, so daß auch in dieser Hinsicht die Ergebnisse viel einfacher zu beurteilen sind als bei einem Vergleich zwischen Desinfizientien aus verschiedenen chemischen Gruppen.

Die nachstehenden Tabb. 1 bis 13 geben eine Anzahl unserer Versuche wieder. Die Versuche 1 bis 5 sind mit Staphylokokken in wässeriger Aufschwemmung angestellt, Versuch 6 mit Staphylokokken in Serum. Versuch 7 bis 9 mit Typhusbazillen, Versuch 10 mit Colibazillen, Versuch 11 und 12 mit Wollstoffproben, an denen Staphylokokken angetrocknet waren, Versuch 13 mit feuchten, mit Coliaufschwemmungen getränkten Stoffproben.

Von den einzelnen Mitteln sind geprüft: Lysol in den Versuchen 1, 2, 3, 6, 7, 9, 13, Kresolseifenersatz in den Versuchen 2, 3, 7, Betalysol und Kresotinkresol in den Versuchen 3 bis 6 und 8 bis 13, Phenolut in den Versuchen 1, 2, 6, 12, Kremulsion in den Versuchen 2, 6, 7.

Mit Lysol als „Standardmittel" wurden verglichen: Kresolseifenersatz bzw. Betalysol in 6, Kresotinkresol in 4, Phenolut und Kremulsion in je 3 von den mitgeteilten Versuchen. Betalysol und Kresotinkresol, als



die wichtigsten der seifenfreien Ersatzmittel, wurden nebeneinander in 10 Versuchen vergleichend geprüft.

Wir lassen nunmehr in den Tabellen 1 bis 13 unsere Versuche folgen.

### Tabelle 1.

### Versuch mit Staphylococcus aureus I.

Jedes Versuchsröhrchen enthält 4 ccm Antiseptikumlösung. Einsaat je 2 Tropfen einer Abschwemmung von 24stündiger Agarkultur in 3 ccm Kochsalzlösung mit Bouillonzusatz. Aussaat je 2 Tropfen aus den Versuchsröhrchen in 10 ccm Bouillon und 10 ccm Agar; letzterer wird zu Platten verarbeitet.

| | Lysol in Leitungswasser | | | | | | Phenolut, geschüttelt in Leitungswasser | | | | | | Phenolut vom Boden der Flasche; in Leitungswasser | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Abimpfung nach | 1 | | 3 | | 10 | | 1 | | 3 | | 10 | | 1 | | 3 | | 10 Min. | |
| Aussaat in | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. |
| 5 % | · | · | · | · | · | · | · | · | · | · | · | · | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | 5 |
| 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 10 | — | — | + | + | + | + | + | + |
| 1 | (+) | — | (+) | — | — | — | + | (+) | — | 28 | — | — | + | + | + | + | + | + |
| 1/2 | + | (+) | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | · | · | · | · | · | · |
| 1/4 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | · | · | · | · | · | · |

Erklärung der Zeichen.

B. = Bouillon.  
A. = Agar.  
+ bedeutet bei Bouillon starke Trübung nach 24 Stunden.  
(+) „ „ „ „ „ „ 48 „  
+ „ „ Agar mehr als 10000 Keime.  
(+) „ „ „ unter 10000 Keime. Keimzahlen unter 1000 sind in Zahlen angegeben. Zählung der Keime nach 48 Stunden bei 37°.  
— bedeutet kein Wachstum.  
· „ nicht untersucht.

### Tabelle 2.

### Versuch mit Staphylococcus aureus I.

Volumen 4 ccm; Einsaat 4 Tropfen einer Aufschwemmung in 4 ccm Wasser; Aussaat 1 Tropfen daraus in Bouillonröhrchen und flüssigen Agar.

Zählung der Platten und Beobachtung der Bouillon nach 24 und 72 Stunden.



**Für Bouillon die Werte in Klammern = Wachstum erst nach 72 Stunden.**

| | Lysol | | | | | | Kresolersatz | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Abimpfung nach** | 1 | | 3 | | 10 | | 1 | | 3 | | 10 Min. | |
| **Abgeimpft in** | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. |
| 2 % | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1 | — | — | — | — | — | — | (+) | — | — | — | — | — |
| 1/2 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 1/4 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

| | Kremulsion | | | | | | Phenolut | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Abimpfung nach** | 1 | | 3 | | 10 | | 1 | | 3 | | 10 Min. | |
| **Abgeimpft in** | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. |
| 2 % | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1 | — | — | — | — | — | — | + | + | + | (+) | (+) | 100 |
| 1/2 | + | (+) | (+) | 500 | (+) | 220 | + | + | + | + | + | + |
| 1/4 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

## Tabelle 3.

### Versuch mit Staphylococcus aureus I.

Eine Schrägagarkultur in 3 ccm sterilem Leitungswasser abgeschwemmt; davon Einsaat je 3 Tropfen in 5 ccm Desinfiziens in Leitungswasser (frisch hergestellte Lösungen).

Aussaat je 1 Tropfen a) in flüssigen Agar; b) auf Schrägagar; c) in Bouillonröhrchen.

Erklärung der Zeichen.

+ = Wachstum nach 1 Tag.
(+) = „ „ 2 Tagen.
— = kein Wachstum.

| | Entnahme nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 Min. | | | 2 Min. | | | 5 Min. | | | 10 Min. | | |
| | Agar | | B. | Agar | | B. | Agar | | B. | Agar | | B. |
| | fl. | schr. | | fl. | schr. | | fl. | schr. | | fl. | schr. | |
| 1 % **Lysol** . . . . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| „ **Kres.-Seif.-Ersatz** | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| „ **Betalysol** . . . | — | — | — | (ver.) | + | (+) | — | — | — | — | — | — |
| „ **Kresotinkresol** . | 1000 | ++ | + | 100 | + | + | — | — | — | — | — | — |



| | Entnahme nach | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 5 Min. | | | 10 Min. | | | 30 Min. | | |
| | Agar | | B. | Agar | | B. | Agar | | B. |
| | fl. | schr. | | fl. | schr. | | fl. | schr. | |
| ½% Lysol . . . . | 5000 | ++ | + | 25 | + | + | (2) | — | (+) |
| „ Kres.-Seif.-Ers. | 5000 | ++ | + | 500 | ++ | + | 4 | + | (+) |
| „ Betalysol . . . | 1000 | ++ | + | 20 | + | + | — | (1) | — |
| „ Kresotinkresol . | ∞ | +++ | + | ∞ | +++ | + | ∞ | +++ | + |

## Tabelle 4.

### Versuch mit Staphylococcus aureus II.

Eine Kultur in 2 ccm sterilem Leitungswasser abgeschwemmt, davon je 3 Tropfen in 5 ccm Desinfiziens (4 Tage alte Lösungen in Leitungswasser).

Aussaat je 1 Tropfen a) auf Schrägagar; b) in Bouillonröhrchen; c) in 50 ccm-Bouillonkolben.

Beobachtung 7 Tage lang.

Erklärung der Zeichen.

| | | |
|---|---|---|
| +++ | = | unzählige Kolonien (auf Schrägagar). |
| ++ | = | etwa 25 bis 200 Kolonien. |
| + | = | darunter (einzelne Kolonien in Zahlen). |
| (+) | = | Wachstum erst nach 48 Stunden. |
| ((+)) | = | „ „ „ 72 „ |
| — | = | kein Wachstum. |
| · | = | nicht untersucht. |

| Entnahme nach Minuten | | 1 | 3 | 5 | 10 | 20 | 30 | 40 | 60 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1% Betalysol | Agar | — | — | — | — | · | — | · | · |
| | Bouillonröhrchen | — | — | — | — | · | — | · | · |
| | Bouillonkolben | — | — | — | — | · | — | · | · |
| 1% Kresotinkresol | Agar | + | 4 | — | — | · | — | · | · |
| | Bouillonröhrchen | (+) | — | — | — | · | — | · | · |
| | Bouillonkolben | + | — | — | — | · | — | · | · |
| ¾% Betalysol | Agar | · | 6 | · | — | — | · | — | — |
| | Bouillonröhrchen | · | — | · | — | — | · | — | — |
| | Bouillonkolben | · | ((+)) | · | — | — | · | — | — |
| ¾% Kresotinkresol | Agar | · | +++ | · | +++ | + | · | 4 | — |
| | Bouillonröhrchen | · | + | · | — | — | · | — | — |
| | Bouillonkolben | · | + | · | (+) | (+) | · | — | — |



### Tabelle 5.

### Versuch mit Staphylococcus aureus II.

Einsaat je 5 Tropfen Kulturaufschwemmung in 5 ccm Desinfiziens (frisch bereitete Lösungen in Leitungswasser).

Aussaat je 1 Tropfen a) auf Schrägagar; b) in Bouillonröhrchen; c) in Bouillonkolben zu 100 ccm.

Beobachtung 7 Tage lang.

**Erklärung der Zeichen.**

(+) = Wachstum erst nach 2 Tagen.
((+)) = „ „ „ 3 oder 4 Tagen.

| Entnahme nach | 1 Min. | 2 Min. | 4 Min. | 10 Min. | 20 Min. | 30 Min. | 24 Std. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1% Betalysol. Agar | +++ | ++ | + | + | — | — | — |
| Bouillonröhrchen . | + | + | + | — | — | — | — |
| Bouillonkolben . | + | (+) | (+) | — | — | — | — |
| 1% Kresotinkresol. Agar | +++ | +++ | +++ | ++ | — | 3 | — |
| Bouillonröhrchen . | + | + | + | ((+)) | — | — | — |
| Bouillonkölbchen . | + | + | + | + | — | — | — |
| ³/₄% Betalysol. Agar | +++ | +++ | ++ | ++ | 2 | — | — |
| Bouillonröhrchen . | + | + | ((+)) | — | ((+)) | — | — |
| Bouillonkolben . | + | + | + | + | + | (+) | — |
| ³/₄% Kresotinkresol. Agar | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | — |
| Bouillonröhrchen . | + | + | + | + | + | + | — |
| Bouillonkolben . | + | + | + | + | + | + | — |

### Tabelle 6.

### Versuch mit Staphylococcus aureus II.

Frisch bereitete Lösungen der Antiseptika in reinem Rinderserum (je 2 ccm).

Einsaat je 2 Tropfen dichter Kulturaufschwemmung.

Aussaat je 1 Tropfen a) auf Schrägagar; b) in Bouillonröhrchen.

Beobachtung 10 Tage lang.

**Erklärung der Zeichen.**

+++ = unzählige Kolonien.
++ = etwa 25 bis 200 Kolonien.
+ = darunter (einzelne Kolonien in Zahlen angegeben).
(+) = Wachstum erst nach 48 Stunden.
((+)) = „ „ „ 72 „
(ver.) = verunreinigt.



| Entnahme nach | 1 Min. | | 3 Min. | | 10 Min. | | 30 Min. | | 1 Std. | | 2 Stdn. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. |
| 1½% Lysol . . . | +++ | + | ((1)) | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Betalysol . . | +++ | + | (4) | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Kresotinkresol | +++ | + | + | (+) | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Kremulsion . | +++ | — | (1) | (+) | ((1)) | — | — | — | — | — | — | — |
| Phenolut . . | +++ | + | +++ | + | +++ | + | (4) | (+) | ((+)) | — | — | — |
| 1% Lysol . . . | +++ | + | +++ | + | +++ | + | (ver.) | (+) | + | (+) | — | — |
| Betalysol . . | +++ | + | +++ | (+) | ++ | (+) | 3 | — | ((3)) | (+) | — | — |
| Kresotinkresol | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | ++ | + |
| Kremulsion . | +++ | + | +++ | + | +++ | + | ++ | (+) | (+) | — | — | — |
| Phenolut . . | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | ++ | + | + | + |
| ¾% Lysol . . . | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + |
| Betalysol . . | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | + | + |
| Kresotinkresol | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + |
| Kremulsion . | +++ | + | ++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | + | (+) |
| Phenolut . . | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + |

Tabelle 7.

Versuch mit Typhusbazillen.

Versuchsanordnung wie in Versuch 1.

Einsaat in jedes Versuchsröhrchen 4 Tropfen Abschwemmung einer 24stündigen Agarkultur.

Aussaat je 1 Tropfen a) in Bouillonröhrchen; b) in flüssigen Agar.

| | Kresolseifenersatz | | | | | | Kremulsion | | | | | | Lysol | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | | 3 | | 10 | | 1 | | 3 | | 10 | | 1 | | 3 | | 10 | |
| Aussaat in: | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. | B. | A. |
| 2% | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1% | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| ½% | + | + | + | 350 | + | (+) | + | + | + | — | — | 100 | + | + | + | 800 | + | 150 |
| ¼% | + | + | + | + | + | + | + | + | + | 800 | + | 50 | + | + | + | + | + | + |

Tabelle 8.

Versuch mit Typhusbazillen.

Einsaat je 5 Tropfen Bakterienaufschwemmung in 5 ccm frisch mit Leitungswasser bereitete Verdünnungen.

Aussaat je 1 Tropfen nur auf Schrägagar.

Beobachtung nach 24, (48), ((72)) Stunden.



| Entnahme nach Min. | 1 | 3 | 5 | 10 | 20 | 30 | 45 | 60 | 120 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1% Betalysol | — | — | — | — | — | — | — | — | · |
| 1% Kresotinkresol | ++ | ++ | —(2 Col.) | — | — | — | — | — | · |
| 2% Kresolkalium (Nördlinger) | 1 Col. | 2 Col. | — | — | — | — | — | — | · |
| ¾% Betalysol | ++ | + | · | — | — | — | — | — | · |
| ¾% Kresotinkresol | +++ | ++ | · | + | — (6) | — (3) | — | — | · |
| 1% Kresolkalium | +++ | +++ | · | ++ | — | — | — | — | · |
| ½% Betalysol | · | · | +++ | ++ | · | — | · | — | — |
| ½% Kresotinkresol | · | · | +++ | +++ | · | +++ | · | ++ | 2 Col. |
| ¾% Kresolkalium | · | · | +++ | +++ | · | ++ | · | ++ | — |

Tabelle 9.

Versuch mit Typhusbazillen.

Eine Kultur in 5 ccm Bouillon abgeschwemmt; davon Einsaat je 5 Tropfen in 5·0 Desinfiziens (2 Tage alte Lösungen in sterilem Leitungswasser).

Aussaat je 1 Tropfen a) auf Schrägagar; b) in Bouillonröhrchen.

Beobachtung 7 Tage lang.

Erklärung der Zeichen.

+++ = unzählige Kolonien (zusammenhängender Rasen).
++ = etwa 25 bis 200 Kolonien.
+ = darunter (einzelne Kolonien in Zahlen angegeben).
(+) = Wachstum erst nach 48 Stunden (später keine Veränderung).

| Entnahme nach | 1 Min. | | 2 Min. | | 5 Min. | | 10 Min. | | 20 Min. | | 35 Min. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. |
| 1% Lysol | —(+) | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1% Betalysol | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1% Kresotinkresol | ++ | + | —(+) | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| ½% Lysol | +++ | + | +++ | + | ++ | + | + | + | 1 | + | — | — |
| ½% Betalysol | +++ | + | ++ | + | + | + | 1 (4) | + | — | — | — | — |
| ½% Kresotinkresol | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | ++ | + | + | + |

Tabelle 10.

Versuch mit Colibazillen.

Einsaat 1 Tropfen einer dichten Bakterienabschwemmung in je 3 ccm der 3 Tage vorher hergestellten Verdünnungen der Antiseptika.

Aussaat je 1 Tropfen a) auf Schrägagar; b) in Bouillonröhrchen; c) in 100 ccm Bouillonkolben.

Ergebnis nach 24 Stunden; in den nächsten 3 Tagen tritt keine Veränderung ein.



| | Entnahme nach Minuten | 1 | 3 | 10 |
|---|---|---|---|---|
| 3/4% Betalysol | Schrägagar | + | 2 Col. | — |
| | Bouillonröhrchen | + | — | — |
| | Bouillonkolben | + | — | — |
| 3/4% Kresotinkresol | Schrägagar | +++ | +++ | + |
| | Bouillonröhrchen | + | + | + |
| | Bouillonkolben | + | + | + |
| 1/2% Betalysol | Schrägagar | +++ | +++ | +++ |
| | Bouillonröhrchen | + | + | + |
| | Bouillonkolben | + | + | + |
| 1/2% Kresotinkresol | Schrägagar | +++ | +++ | +++ |
| | Bouillonröhrchen | + | + | + |
| | Bouillonkolben | + | + | + |

Tabelle 11.

Versuch mit Staphylococcus aureus II.

Am Tage zuvor werden dicke Wolläppchen mit einer dichten Abschwemmung der Kokken in sterilem Wasser getränkt und zuerst bei 37°, dann bei Zimmertemperatur getrocknet.

Die 1- und 2prozentigen Lösungen von Betalysol und Kresotinkresol sind 7 Tage alt, alle übrigen frisch bereitet.

Die Läppchen werden aus dem Desinfiziens in Zentrifugengläser mit etwa 25 ccm sterilen Wasser gebracht, das zweimal gewechselt wird, darauf mit steriler Pinzette ausgedrückt, über Agarplatten gestrichen und schließlich in Bouillonröhrchen gebracht.

Ergebnis nach 24 (48) Stunden; danach bei 6tägiger Beobachtung keine weitere Änderung.

| Entnahme nach Std. | 1/4 | | 1/2 | | 1 | | 2 | | 3 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. |
| 3% Betalysol | +++ | + | 3 | + | — | —(+) | — | — | — | — |
| „ Kresotinkresol | +++ | + | ++ | + | — | + | — | — | — | — |
| „ Karbol | +++ | + | 1 | + | — | + | — | — | — | — |
| 2% Betalysol | +++ | + | +++ | + | 4 | + | — | + | — | — |
| „ Kresotinkresol | +++ | + | +++ | + | ++ | + | (fehlt) | + | — | —(+) |
| „ Karbol | +++ | + | +++ | + | —(1) | + | 1 | + | — | + |
| 1% Betalysol | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + |
| „ Kresotinkresol | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + |
| „ Karbol | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + |
| 1‰ Sublimat aus Pastille bereitet | · | · | ++ | —(+) | ++ | — | —(4) | — | —(4) | — |



### Tabelle 12.

### Versuch mit Staphylococcus aureus II.

Tags zuvor an Wolläppchen angetrocknet; etwas schwächere Durchtränkung wie im vorigen Versuch.

Die 3prozentigen Lösungen der beiden ersten Mittel sind vor 3 Monaten hergestellt (und wie stets in dunkeln Flaschen mit eingeschliffenem Stopfen aufbewahrt). Die Phenolutlösung ist aus einer älteren 10prozentigen Emulsion bereitet.

Aussaat nach gründlichem Wässern wie im vorigen Versuch: a) auf Agarplatte; b) in 100 ccm-Bouillonkolben.

Beobachtung 5 Tage lang.

| Entnahme nach | 1/4 Stunde | | 1/2 Stunde | | 1 Stunde | | 2 Stunden | | 3 Std. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. |
| 3% Betalysol | +++ | + | 12 | −(+) | − | − | −− | − | − | − |
| 3% Kresotinkresol | +++ | + | ++ | ±(+) | 15 | −(+) | − | − | − | − |
| 3% Phenolut | +++ | + | 20(+++) | ±(+) | − | −(+) | − | −(+) | − | − |

### Tabelle 13.

### Versuch mit Colibazillen.

Mit einer dichten Abschwemmung von Agarkulturen werden dicke Wollstoffproben getränkt und feucht in die Desinfektionslösungen gebracht.

Nach Wasserspülung wie in den vorigen Versuchen: a) Ausstrich über Drigalskiplatten; b) Einlegen der Proben in 100 ccm-Bouillonkolben.

Beobachtung 6 Tage lang.

| Entnahme nach Minuten | 10 | | 20 | | 40 | | 60 | | 120 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. | Ag. | B. |
| 1% Lysol . . . . . . . | +++ | + | +++ | + | +++ | + | 6 | + | − | − |
| 1% Betalysol . . . . . | +++ | + | +++ | + | ++ | + | −(1) | − | − | − |
| 1% Kresotinkresol . . . | +++ | + | +++ | + | +++ | + | 20 | + | 3 | − |

Aus den zahlenmäßigen Ergebnissen der vorstehenden Versuche sei hervorgehoben, daß 1prozentige Lösungen der verschiedenen Kresolpräparate in Wasser aufgeschwemmte Staphylokokken und Typhusbazillen in der Regel innerhalb einer oder weniger, ausnahmsweise erst innerhalb 20 Minuten abtöteten. Bei 3/4prozentigen Lösungen lagen die Abtötungszeiten für die beiden genannten Bakterienarten etwa zwischen 10 und

60 Minuten; $^1/_2$prozentige Lösungen wirkten auf Staphylokokken innerhalb 30 Minuten nicht sicher, während Typhusbazillen von den wirksameren Präparaten in $^1/_2$prozentiger Lösung in 20 bis 30 Minuten getötet wurden.

Wie verschieden dabei solche Versuche in ihren Einzelheiten ausfallen können, zeigt ein Vergleich der Tabb. 4 und 5. Beide Versuche wurden kurz nacheinander mit demselben Staphylokokkenstamm, denselben Nährböden und völlig gleicher Versuchsanordnung von demselben Untersucher ausgeführt; dabei ergab die 1prozentige Betalysollösung das eine Mal in 1 Minute Sterilität, das andere Mal noch nicht in 10 Minuten, und entsprechende Unterschiede ergaben sich für das Kresotinkresol. Derartig starke Abweichungen zwischen gleichartigen Versuchen gehören natürlich zu den Ausnahmen.

In reinem Serum (Versuch 6) wirkten $1^1/_2$prozentige Lösungen etwa so stark wie 1prozentige Lösungen in Wasser; es ließ sich aber nicht erkennen, daß eines der Präparate (außer vielleicht Phenolut) durch Serum besonders stark gehemmt wurde, die Reihenfolge blieb vielmehr die gleiche wie in den anderen Versuchen. Auch die Kremulsion war in reinem Serum nicht in stärkerem Grade abgeschwächt als die anderen Mittel, während Behring beim Kreolin eine besonders starke Hemmung durch Serum fand.

In wie hohem Grade die Wirkung aller Mittel herabgesetzt ist, sobald die Bakterien ihnen nicht frei zugänglich sind, zeigen die Tabb. 11 bis 13. Schon frisch mit Coliaufschwemmungen getränkte, noch feuchte Wollläppchen wurden z. B. durch 1prozentige Betalysollösung erst in 2 Stunden sterilisiert (Tab. 13), während derselbe Colistamm in Wasser aufgeschwemmt durch $^3/_4$prozentige Lösung in 10 Minuten getötet wurde (Tab. 10). Wurden aber Staphylokokken an Wollstoffproben angetrocknet, so wirkten erst 3prozentige Lösungen innerhalb 2 Stunden annähernd zuverlässig (Tabb. 11 und 12). Diese Konzentration und Einwirkungsdauer dürfte daher für die Desinfektion von Kleidern und Wäsche vorzuschreiben sein. Auch Karbol, das in Versuch 11 mitgeprüft wurde, wirkte in dieser Zeit abtötend, nicht dagegen Sublimat in 0,1prozentiger Lösung. Bei diesem macht sich die Entwicklungshemmung anders wie bei den Mitteln der Phenolgruppe geltend; das Wachstum auf Bouillon bleibt schon nach 1stünd., auf der Agaroberfläche noch nicht nach 3stünd. Einwirkung aus! Spätere Versuche bestätigten dies Verhalten. Wurden die Bakterien anstatt an dicken wollenen Lappen an Baumwollstoffen oder Gaze angetrocknet, so wurden sie, wie schon von anderen Untersuchern festgestellt worden ist, weit leichter abgetötet; die einschlägigen Versuche sind hier nicht im einzelnen mitgeteilt.



Was nun den Vergleich zwischen den einzelnen Mitteln betrifft, so geht aus den Versuchen, deren Einzelheiten aus den Tabellen ersichtlich sind, hervor, daß von den seifenfreien Ersatzmitteln das Hamburger Präparat „Betalysol“ sowie das offenbar ihm außerordentlich nahestehende Mittel „Kresolseifenersatz“ der gleichen Fabrik in ihrer Desinfektionskraft den geprüften Bakterienarten gegenüber dem Lysol gleichwertig sind; auch die „Kremulsion“, die als seifenhaltiges und dabei nicht klar lösliches, sondern nur emulgierbares Mittel von geringerem Interesse erschien und nicht so eingehend untersucht wurde, dürfte etwa dieselbe Desinfektionskraft haben.

Demgegenüber wirken Phenolut und Kresotinkresol erheblich schwächer. Das Kresotinkresol ist in zahlreichen Versuchen und unter verschiedenen Bedingungen im Vergleich mit dem Betalysol geprüft worden; die bessere Wirkung des letzteren Präparates zeigt sich sowohl gegenüber zwei Staphylokokkenstämmen, wie Typhus- und Colibazillen, sowohl bei wässerigen Aufschwemmungen wie bei Aufschwemmung in reinem Serum und schließlich bei Desinfektion von Stoffproben. Wie stets bei den Desinfektionsversuchen, treten die Unterschiede in einzelnen Versuchen mehr als in anderen hervor, am deutlichsten sind sie meist da, wo Konzentrationen benutzt werden, die etwa an der Grenze der Wirksamkeit stehen. Auch gegenüber dem Lysol zeigt sich das Kresotinkresol deutlich unterlegen.

Die Brauchbarkeit der in Frage stehenden Mittel ist nun aber nicht allein auf Grund der obigen Versuche zu beurteilen, sondern es sind dabei die sonstigen Eigenschaften in Betracht zu ziehen; auch der Preis ist bei einem Mittel, das zum allgemeinen Gebrauch bestimmt ist, von wesentlicher Bedeutung.

Beim Phenolut ist nun zunächst zu beachten, daß es weder eine Lösung noch eine gleichmäßige Suspension der wirksamen Kresole darstellt, sondern ein Gemisch, dessen verschiedene Bestandteile sich der Schwere nach übereinander lagern, und zwar so, daß die unteren Schichten fast gar keine wirksamen Stoffe enthalten. Wir entnahmen bei den ersten Versuchen das Phenolut mit einer Pipette aus den unteren Schichten und waren überrascht, als wir das Mittel in 2prozentiger Lösung innerhalb unserer Versuchsdauer ganz unwirksam fanden; wie Tab. 1 zeigt, wirkte bei dieser Art der Entnahme eine 5prozentige Lösung weit schlechter als eine 1prozentige, die unmittelbar nach kräftigem Schütteln aus derselben Flasche hergestellt war. Ließen wir das Phenolut nach dem Schütteln kurze Zeit stehen, so hatte sich bereits wieder am Boden

die unwirksame Schicht abgesetzt. Auch beim Abgießen aus einer soeben geschüttelten Flasche erhält man keine gleichmäßige Flüssigkeit, vielmehr fließen zuerst die leichtflüssigeren, dann die zäheren Bestandteile ab. Da es somit, wie wir uns wiederholt überzeugt haben, selbst im Laboratorium schwer ist, gleichmäßige Lösungen von Phenolut herzustellen, so kann das Mittel in der vorliegenden Form zum allgemeinen Gebrauch nicht empfohlen werden. Für solche Fälle, wo jedesmal der ganze Inhalt einer Phenolutflasche zur Herstellung einer Lösung verbraucht wird, wie es sich z. B. bei der Desinfektion von Wäsche und Kleidern im Großbetriebe einrichten ließe, würden die obigen Bedenken entfallen; etwas störend würde sich auch hier die äußerst zähe Beschaffenheit der zum Schluß ausfließenden Schichten des Präparates geltend machen. Das Phenolut ergibt bis zu etwa 3 Prozent klare Lösungen mit Leitungswasser. Es zeigt ebenso wie Kresotinkresol gegen Lackmus annähernd neutrale Reaktion; dabei löst es sich schneller als dieses und ist etwas billiger. Der Preis beträgt nach Angabe der Hersteller 2 Mark für das Kilogramm.

Das Kresotinkresol von Merck ergibt in den in Betracht kommenden Konzentrationen (bis zu 5 Prozent) klare und fast farblose Lösungen mit Leitungswasser; es ist dabei schwerer löslich als die anderen Ersatzmittel, so daß in jedem Fall längeres Schütteln oder Rühren nötig ist. Die Lösungen sind aber nicht beständig, vielmehr scheiden sich bei längerem Stehen schon aus 3prozentigen, in stärkerem Grade aus 5prozentigen Lösungen braune zähe Tropfen aus; läßt man die Lösungen in flachen Schalen stehen, so bildet sich eine zähe, braune Schicht, die fest am Boden haftet, was sich gelegentlich bei unseren unten erwähnten Händedesinfektionsversuchen unangenehm bemerkbar machte.

Die Unbeständigkeit der Lösungen würde auch zu berücksichtigen sein, wenn man Kleider oder Wäsche längere Zeit in den Lösungen liegen lassen oder wenn man dieselben Desinfektionslösungen bei der Desinfektion oder Entlausung im Großbetriebe mehrere Tage lang benutzen will, wie es bei der Entlausung mit Kresolseife vielfach üblich ist.

Das Kresotinkresol reagiert gegen Lackmus annähernd neutral; dies wird als Vorteil bei der Desinfektion empfindlicher Stoffe, insbesondere Wollstoffe, angesehen. Daß das Mittel trotz der neutralen Reaktion die Haut ziemlich stark reizt, zeigte sich bei unseren Händedesinfektionsversuchen. Der Preis des Mittels beträgt für 100 kg ohne Verpackung 225 Mark (der Preis bei kleineren Packungen ist uns nicht bekannt).

Das „Betalysol" der Hamburger Fabrik von Schülke & Mayr (und das mit ihm, wie erwähnt, in allen wesentlichen Eigenschaften überein-

stimmende Präparat „Kresolseifenersatz" der gleichen Hersteller) ist unter den von uns geprüften seifenfreien Kresolpräparaten das einzige, das dem Friedenspräparat Lysol bzw. der Kresolseife des Arzneibuches an Desinfektionskraft gleichkommt. Es ist im Gegensatz dazu jedoch nur bis zu etwa $3^1/_2$ Prozent in Wasser klar löslich, während es bei höherem Gehalt eine Emulsion ergibt. Für die meisten Zwecke dürften wohl 2- bis 3prozentige Lösungen ausreichen. Der Vorteil der höheren Löslichkeit des Kresotinkresols gegenüber dem Betalysol wird durch die soeben hervorgehobene Unbeständigkeit der Lösungen etwas beeinträchtigt; hierin verhalten sich beide Mittel ziemlich gleich, indem auch das Betalysol schon in 3prozentigen Lösungen beim längeren Stehen einen Bodensatz ausscheidet, der aber mehr weißlich und nicht so zäh wie beim Kresotinkresol ist. Beide Mittel stehen also in dieser Hinsicht hinter dem Lysol bzw. der Kresolseifenlösung des Arzneibuches zurück.

Während in hartem Leitungswasser bei Lysol (durch Ausfällung der Erdalkalien) eine Trübung entsteht, ist das bei Betalysol nicht der Fall. Das Präparat löst sich schneller als Kresotinkresol, aber nicht so gut wie Lysol.

Was die Reaktion betrifft, so ist eine 3prozentige Lösung gegen Lackmus mäßig stark alkalisch, während eine entsprechende Lysollösung nur eine schwache Alkaleszenz zeigt. Die Alkaleszenz des Präparates ist in zweierlei Hinsicht wichtig. Einmal können sich Kresolalkaliverbindungen bilden, die bekanntlich, wie insbesondere Schneider gezeigt hat, nur geringe Desinfektionskraft besitzen. Daß bei dem vorliegenden Mittel die Desinfektionswirkung durch die Alkaleszenz nicht beeinträchtigt wird, zeigt der günstige Ausfall unserer Versuche, insbesondere Versuch 8, bei dem zum Vergleich ein 50 Prozent Kresol enthaltendes Kresolkalium (von der Chemischen Fabrik Flörsheim) herangezogen wurde. Dieses letztere Präparat war in der Tat viel schwächer wirksam, es ist aber auch sehr viel (etwa vier- bis fünfmal) stärker alkalisch als das Betalysol.

Weiterhin verdient die Alkaleszenz Beachtung bei der Frage nach der schädigenden ätzenden Wirkung der Präparate, vor allem sind Wollstoffe gegen Alkalien empfindlich. Ob in dieser Hinsicht durch die verhältnismäßig geringe Alkaleszenz des Hamburger Präparates Schädigungen auftreten können, kann nur durch eigene Versuche entschieden werden. Nun ist das Hamburger Mittel „Kresolersatz" (das die gleiche Alkaleszenz wie Betalysol hat) zufolge einer Mitteilung der Firma Schülke & Mayr im Bereich des IX. Armeekorps erprobt worden. Wie das Sanitätsamt des genannten Korps dem Institut mitgeteilt hat, hat sich das Mittel dort gut bewährt. Es wurde u. a. in 1prozentiger, 25 bis 30° warmer Lösung



zur Desinfektion und Abtötung von Nissen an Kleidern, Wäsche und Stiefeln mehrere Monate lang benutzt, ohne daß Schädigungen festgestellt wurden.

Um die Frage zu entscheiden, ob nicht doch in stärkeren Lösungen eine gewisse Schädigung von Wollstoffen eintritt, wurden Proben von grauem Militäruniformtuch, die dem Institut seitens der Kriegsrohstoffabteilung in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt wurden, mit den verschiedenen Mitteln behandelt und im Königlichen Materialprüfungsamt im Vergleich mit einer in Wasser eingelegten Kontrollprobe einer Untersuchung auf Festigkeit und Dehnung unterzogen.

Die Proben wurden in vier großen Bottichen etwa 20 Stunden lang in 3- und 5prozentigen Lösungen von Betalysol und Kresotinkresol belassen, danach ausgewrungen und an der Luft getrocknet; die Einwirkung der Mittel war also weit stärker, als es in der Praxis bei einmaliger Desinfektion der Fall sein würde. Die Stoffproben lagen in einem großen Bündel von Kleidungsstücken und Decken fast zu unterst auf dem Boden des Bottichs, wo sich, wie oben schon hervorgehoben wurde, in allen Lösungen, beim Kresotinkresol in etwas höherem Maße als bei dem Betalysol, ein starker Bodensatz ausschied.

Nachstehend geben wir das Resultat der Untersuchung im Königlichen Materialprüfungsamt wieder. Die Tuchprobe Nr. 1 ist mit 3prozentiger, Nr. 3 mit 5prozentiger Betalysollösung, Nr. 2 und 4 mit 3- bzw. 5prozentiger Kresotinkresollösung behandelt, Nr. 5 ist die Kontrollprobe.

Tabelle 14.

Ergebnis der Prüfung von fünf Tuchproben auf Festigkeit und Dehnung.

| Aktenzeichen | Bezeichnung der Proben durch die Antragstellerin. Nr. | Bruchlast[1] | | Bruchdehnung[1] | | Quadratmetergewicht bei 65% Luftfeuchtigkeit. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Kette kg | Schuß kg | Kette % | Schuß % | g |
| 29443 A | 1 | 79·6 | 60·8 | 40·7 | 46·2 | 540 |
| 29443 B | 2 | 78·2 | 61·3 | 40·8 | 44·1 | 538 |
| 29443 C | 3 | 77·0 | 61·1 | 39·9 | 43·0 | 523 |
| 29443 D | 4 | 78·6 | 60·4 | 39·8 | 45·3 | 531 |
| 29443 E | 5 | 76·0 | 58.4 | 37·1 | 43·5 | 481 |

[1] Die Werte sind Mittel aus je 5 Versuchen.





Freie Einspannlänge der Probestreifen 300 mm, Breite der Probestreifen 90 mm. Die Streifen wurden beim Zerreißen der Länge nach doppelt zusammengelegt.

Geprüft wurde bei 20° C Zimmerwärme und 65 Prozent Luftfeuchtigkeit.

Berlin-Lichterfelde W., den 10. Mai 1917.

Königliches Materialprüfungsamt.

Direktor: gez. Rudeloff. (Stempel.) Abteilungsvorsteher: gez. Dr. Heermann.

Nach Auskunft von Herrn Professor Heermann vom Materialprüfungsamt lassen sich durch die dort angewandte Art der Untersuchung Schädigungen der Stoffe, insbesondere auch solche Schädigungen, die auf Alkaliwirkung beruhen, mit großer Sicherheit feststellen, weit sicherer, als es durch einfache Beobachtung beim längeren Tragen der behandelten Stoffe möglich ist. Aus der Prüfung geht hervor, daß die Elastizität und Festigkeit der Stoffe durch die Behandlung nicht gelitten hat, und daß sich insbesondere die mit Betalysol behandelten Wollstoffe nicht anders verhalten wie die mit Kresotinkresol behandelten Proben. Daß in allen Proben ein Vergleich mit den Kontrollen bei den Reißproben etwas höhere Zahlen gegenüber der Kontrollprobe erhalten wurden, ist auf eine gewisse Verklebung der Fasern zurückzuführen.

Hiernach schädigt das schwach alkalische Betalysol wollene Stoffe ebensowenig wie das neutrale Kresotinkresol.

Der Preis des Betalysols beträgt zurzeit nach Mitteilung der Hersteller bei kleineren Packungen (Blechkannen zu 12 kg) 1·85 Mark für 1 kg ohne Verpackung, in größeren Holzfässern 1·55 Mark für 1 kg.

Nach den mitgeteilten Versuchen kann bei der Desinfektion von Kleidern und Wäsche die zweistündige Einwirkung einer 3prozentigen Lösung der beiden Ersatzmittel Betalysol und Kresotinkresol als genügend angesehen werden.

Es dürfte aber unserer Ansicht nach kein Bedenken bestehen, die gleichen Lösungen auch für die meisten der übrigen Desinfektionsmaßnahmen zuzulassen, bei denen nach den amtlichen Anweisungen neben der 5prozentigen Kresolseifenlösung („verdünntes Kresolwasser“) die, wie schon Flügge hervorgehoben hat, viel schwächer wirksame 3prozentige Karbolsäure zugelassen ist.

Es handelt sich dabei zunächst um die Desinfektion der Fußböden, Möbel, Wände u. dgl. Hier kommt das Desinfektionsmittel in der Regel nur kurze Zeit mit den Objekten in Berührung, andererseits sind dieselben nur ausnahmsweise stark beschmutzt, und in diesem Falle sollten die betreffenden Stellen unbedingt sogleich desinfiziert werden; im übrigen ist



die Gefahr, die von ihnen droht, praktisch von keiner großen Bedeutung. Handelt es sich um dickere Schichten von Schleim, Auswurf, Fäzes, so wirkt keines unserer Desinfektionsmittel zuverlässig. Bei der Unsicherheit, die in dieser Hinsicht allen chemischen Desinfektionsverfahren anhaftet, ist es in gewissem Grade willkürlich, welche Anforderungen man für die Praxis stellen soll. So ist es verständlich, daß z. B. auch beim Sublimat für die Desinfektion der Fußböden usw. ganz verschiedene Lösungen angegeben werden: während unsere amtlichen Anweisungen sich auch hier mit der 0·1prozentigen Lösung begnügen, fordern Abba und Rondelli auf Grund eigener Versuche und der von Ottolenghi eine 1prozentige Lösung.

Erheblich wichtiger ist die Desinfektion der Ausleerungen der Kranken und der Steckbecken; auch hier ist nach den geltenden Vorschriften die 3prozentige Karbollösung zugelassen. Soweit überhaupt die Kresolpräparate anstatt der geeigneten Kalkmilch für diese Zwecke gebraucht werden sollen, würden wenigstens 5prozentige Lösungen (oder auch Emulsionen, die in diesem Falle wohl dieselben Dienste leisten) zu fordern sein; eine ganz sichere Wirkung wird man auch dann nicht erwarten können.

## II. Versuche über Entlausung.

Bezüglich der Wirkung auf Läuse und Nissen wurde das Hamburger Mittel „Kresolersatz" in einer Reihe von Versuchen mit Lysol verglichen, und zwar zunächst an Schweineläusen, dann an Kleiderläusen. Wir teilen im folgenden nur einige Beobachtungen an Kleiderläusen mit; die Schweineläuse erwiesen sich, wie auch bei anderen Versuchen, erheblich weniger widerstandsfähig.

Versuchsanordnung. Die Läuse wurden in eine Glasschale abgezählt, auf einen wollenen Lappen geschüttet, wo sie rasch auseinander liefen, während sie sich auf dem glatten Glasboden ineinander verkrallt hatten. Dann wurde der Lappen zunächst in Wasser zum Untersinken gebracht. Von dort konnte er dann ohne Zeitverlust in der Antiseptikumlösung momentan zum Untersinken gebracht werden. Das vorherige Untertauchen in Wasser erschien unnötig bei Versuchen mit Baumwolläppchen (Handtuchfetzen). Zur genauen Feststellung der Desinfektionszeit wurde in den meisten Versuchen die Nachwirkung des Mittels durch Spülen der Läppchen in Leitungswasser beseitigt. Die Läppchen wurden dann kurz zwischen Fließpapier abgetropft und in eine offene, mit Fließpapier ausgelegte Petrischale gebracht. Die Schalen blieben offen im Zimmer stehen.

Bei dem Kresoltod der Schweineläuse tritt eine schwärzliche Verfärbung der Tiere auf. Sie erscheint jedoch nicht regelmäßig, ist jedenfalls nach 24 Stunden noch nicht immer ausgeprägt. Zur Beurteilung des eingetretenen Todes mußte daher im wesentlichen das Fehlen von Be-





wegungen — auch auf Reize — herangezogen werden. Bewegungen waren bei den auflebenden Läusen manchmal nur nach Anstoßen derselben festzustellen. Die Beobachtung wurde bei Kleiderläusen auf mehrere Tage ausgedehnt. Es zeigte sich, daß die Läuse erst nach 48stündiger Bewegungslosigkeit als tot angesehen werden können.

Die von mehreren Autoren bereits beschriebene Rotfärbung der Kleiderläuse bei dem Kresoltod trat nicht in jedem Falle auf. Deutlich rot wurden überhaupt nur die 1 Stunde im Antiseptikum gewesenen Läuse. Die Versuche, die Schädigung der am Leben gebliebenen Läuse durch Fütterung derselben zu prüfen, ergaben trotz Anwendung von Nachhilfe (Unterstützung des Hinterkörpers, vgl. Halberkann) nicht immer, sondern anscheinend nur bei hungrigen Läusen Erfolg.

Die Versuchsanordnung für die Versuche mit Nissen war analog der mit Läusen, sie wurden ebenfalls nach der Behandlung mit dem Antiseptikum in Wasser abgespült. Nach dem Abtrocknen kamen sie jedoch in den 33°-Thermostaten. Es wurden Kontrollen (unbehandelte oder nur in Wasser gewesene) in offener Schale in denselben Brutschrank gesetzt.

Tabelle 15.

Versuch mit Kleiderläusen.

Die Läuse (22 Weibchen, 6 Männchen, 3 Larven) sind 4 Stunden vor dem Versuch gefüttert. Je 4 Läuse kommen auf jeden Lappen. Nach Entnahme aus dem Desinfiziens werden die Läppchen mit den Läusen in Wasser abgespült.

| | | 3 % Lysol | | | | 3 % Kresolseifenersatz | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Einwirkungszeit: | | 5 | 10 | 30 | 60 | 5 | 10 | 30 | 60 Min. |
| 4 Läuse auf jeden Lappen, | 10 Min. | 1 ♀ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| davon leben nach: | 1/2 Std. | „ | 0 | 0 | 0 | 1 ♀ | 0 | 0 | 0 |
| | 1 „ | „ | 0 | 0 | 0 | „ | 0 | 0 | 0 |
| | 24 „ | 2 ♀ | 0 | 0 | 0 | 2 ♀ | 0 | 0 | 0 |
| | | 1 Larve | | | | 1 Larve | 0 | | |
| | 48 „ | 2 ♀ | 1 ♀ | 1 ♀ | 0 | 1 ♀ | 1 ♂ | 0 | 0 |

Ein Desinfektionsversuch an Läusen bei Anwendung der beiden verglichenen Mittel in nur 2prozentiger Konzentration führte bei beiden Mitteln nicht zur völligen Abtötung der Läuse in den gewählten Zeiträumen. Jedoch war nach einstündiger Einwirkung weitaus die Mehrzahl der Läuse abgetötet.

Tabelle 16.

Versuch mit Kleiderläusen.

Die Läuse sind einige Stunden vor Versuchsbeginn gefüttert. Nach Entnahme aus dem Desinfiziens werden die Läppchen mit den Läusen in Wasser abgespült.

| | | 2% Lysol | | 2% Kresolseifenersatz | | Kontrollen (14 Läuse) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Einwirkungszeit: | | 30 | 60 | 30 | 60 Min. | 1½ St. in Wasser |
| 12 Läuse auf jeden Lappen, | 2 St. | 0 | 0 | 4 | 0 | 14 |
| davon leben nach: | 24 „ | 4 | 1 | 7 | 1 | 14 |
| | 48 „ | 3 | 0 | 7 | 1 | die meisten |
| | 72 „ | 0 | 0 | 5[1] | 0 | 0 |
| | 4 Tagen | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tabelle 17.

Versuch mit Kleiderläusen.

Die Läppchen mit den Läusen werden nach der Desinfektion nicht gespült, nur kurz durch Auflegen auf Fließpapier getrocknet. Aus den Proben, die 5 Minuten im Desinfiziens waren, werden nach 1 Stunde je 1 Laus, nach 3 Stunden je 2 Läuse vom Lappen genommen und in einiger Entfernung von ihm auf die Fließpapierunterlage gesetzt.

Von den so außerhalb der Nachwirkung des Desinfiziens gebrachten Läusen lebten in Kresotinkresol alle drei auf, in Betalysol zwei, in Kresolseifenersatz eine; eine aus letzterer Lösung erholte sich auch auf dem Lappen.

| | | 3% Kresolseifenersatz | | | | 3% Betalysol | | | | 3% Kresotinkresol | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Einwirkungszeit: | | 1 | 5 | 30 | 60 | 1 | 5 | 30 | 60 | 1 | 5 | 30 | 60 Min. |
| wiederaufgelebt sind nach | 10 Min. | 6 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 Std. | 6 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 |
| | 3 „ | 6 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 |
| | 5 „ | 6 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 |
| | 20 „ | 6 | 2 | 0 | 0 | 6 | 2 | 0 | 0 | 6 | 6 | 0 | 0 |
| | 23 „ | 6 | 2 | 0 | 0 | 6 | 2 | 0 | 0 | 6 | 6 | 0 | 0 |
| | 48 „ | 6 | 2 | 0 | 0 | 6 | 2 | 0 | 0 | 6 | 2 | 0 | 0 |
| Zahl der zum Versuch eingelegten Läuse | | 6 | 8 | 8 | 10 | 6 | 8 | 10 | 10 | 6 | 8 | 10 | 10 |

Tabelle 18.

Versuch mit Nissen.

Die Nissen sind vor 2 Tagen abgelegt worden.

Wolläppch. mit 7 Eiern 15 Min. i. 2% Kresolseifeners. gelegen: kriech. innerh. 14 Tag. nicht aus
„ „ 5 „ 30 „ „ 2% „ „ „ „ „ „ „ „
„ „ 6 „ 1 Std. „ 2% „ „ „ „ „ „ „ „
„ „ 7 „ Kontrolle: „ sämtlich am 6. Tage „

[1] Diese Läuse waren vor 48 Stunden gefüttert worden, daher überlebten sie die Kontrollen.



Es genügte also bereits ein Aufenthalt von 15 Minuten in Kresolseifenersatzlösung von 2 Prozent, um zweitätige Eier von Kleiderläusen abzutöten; während die unbehandelten Eier sämtlich am 6. Tage auskrochen, ergaben die behandelten auch nach 14 Tagen keine Jungen.

Wie der Versuch 15 und andere, hier nicht wiedergegebene Versuche zeigten, werden Kleiderläuse in 3prozentigen Lösungen erst nach 1 Stunde (bei Kresolseifenersatz in Versuch 15 schon nach $^1/_2$ Stunde) sicher abgetötet; für Schweineläuse fanden wir schon 20 Minuten genügend. In 2prozentiger Lösung wirkten beide Mittel auf Kleiderläuse innerhalb 1 Stunde nicht ausreichend (Versuch 16).

Der „Kresolersatz" zeigte auch in einigen weiteren Versuchen mindestens die gleiche, teilweise sogar eine etwas stärkere Wirkung wie das Lysol; dies steht in Übereinstimmung mit den Versuchen, die Halberkann aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten mitgeteilt hat, und wie wir auch sonst in jeder Weise bestätigen konnten.

In der Praxis werden, wenigstens im Großbetriebe, die zur Entlausung in Kresollösungen eingelegten Sachen nur ausgewrungen, ohne gewässert zu werden; die Wirkung wird dann noch sicherer sein, als in den Versuchen von Halberkann und uns, wo die Wollappen meist mit Wasser gespült wurden.

In Übereinstimmung mit Halberkann fanden auch wir die Nissen viel weniger widerstandsfähig als die Läuse; sie wurden durch 2prozentige Lösungen schon in 10 Minuten getötet (Versuch 18).

In einem weiteren Versuche, wobei die gerade zur Verfügung stehenden Läuse weniger widerstandsfähig als sonst waren, verglichen wir die drei Präparate Kresolersatz, Betalysol und Kresotinkresol. Dabei waren Betalysol und Kresolersatz gleich stark wirksam, und auch Kresotinkresol wirkte nur wenig schwächer (Versuch 17). Mit dem letzteren Mittel haben wir keine weiteren Versuche angestellt.

Auf Grund der mitgeteilten Versuche ist zur Entlausung in der Praxis ein mindestens einstündiges Einlegen von Kleidern und Wäsche in 3prozentige Lösungen der genannten Ersatzmittel (Kresolersatz, Betalysol, Kresotinkresol) zu fordern.

## III. Versuche über Händedesinfektion.

Zahlreiche Versuche wurden zur Entscheidung der Frage ausgeführt, inwieweit die verschiedenen Kresolpräparate sich zur Händedesinfektion eignen. Diese Versuche bilden einen Teil der umfassenden Untersuchungen über Händedesinfektionen, die größtenteils schon vor Beginn des Krieges im Institut ausgeführt wurden und die demnächst im Zusammenhang veröffentlicht werden sollen.



Hier seien nur kurz die Ergebnisse erwähnt, die mit Karbol und Kresolpräparaten an Händen erzielt wurden, die in der von Börnstein mitgeteilten Weise künstlich mit Colibazillen ziemlich reichlich infiziert waren; auch im übrigen entsprach die Versuchstechnik der von Börnstein. Die künstliche Infektion ahmt die Verhältnisse nach, die am Krankenbett und bei Bazillenträgern vorkommen; hier spielen ja die Vertreter der Typhus-, Paratyphus- und Ruhrgruppe, die den Colibazillen nahestehen und meist etwas weniger widerstandsfähig sind, weitaus die wichtigste Rolle, und die Verunreinigung der Finger z. B. durch einen Tropfen eines an Typhusbazillen reichen Harns dürfte auch bezüglich der Menge der Keime unserer künstlichen Infektion mindestens entsprechen. Für die chirurgische Händedesinfektion kommen die Mittel dieser Gruppe überhaupt kaum in Betracht.

Das Karbol wurde, entsprechend den geltenden amtlichen Anweisungen, stets in 3prozentiger Lösung angewendet, die Kresolpräparate zum Teil in 5prozentiger Lösung, wie es die amtlichen Anweisungen unter der Bezeichnung „verdünntes Kresolwasser“ (2·5prozentig) für Kresolseife vorsehen, zum Teil in 2-, $2^1/_2$- und 3prozentigen Lösungen; einige Versuche wurden auch mit 1prozentigen Lösungen gemacht. Immer wurden die Hände 2 Minuten in den Lösungen gewaschen, die entsprechend den in der Praxis meist vorliegenden Verhältnissen mit kaltem Leitungswasser angesetzt waren. Von dem Gebrauch einer Bürste wurde abgesehen, da in der Praxis die Sterilisierung der Bürsten Schwierigkeiten macht, und die Benutzung derselben Bürste durch verschiedene Personen nicht ohne Bedenken ist; übrigens konnten wir durchaus keine Verbesserung der Ergebnisse durch die Bürste erzielen.

Tabelle 19.

Desinfektionsversuche an stark mit Bact. coli infizierten Händen.

Die Hände werden je 2 Minuten lang in der desinfizierenden Lösung gewaschen.

1. Versuche mit 5prozentigen Lösungen.

| | Zahl der Versuche | Nach der Desinfektion wuchsen auf Drigalskiplatten in ··· Fällen | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 0 Coli | unter 100 Coli | über 100 Coli |
| Lysol . . . . . . . . . | 12 | 9 | 3 | 0 |
| Betalysol . . . . . . . | 14 | 7 | 4 | 3 |
| Kresotinkresol . . . . . | 10 | 7 | 3 | 0 |
| zusammen: | 36 | 23 | 10 | 3 |



2. Versuche mit 2- bis 3prozentigen Lösungen.

| | Zahl der Versuche | Nach der Desinfektion wuchsen auf Drigalskiplatten in ··· Fällen | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 0 Coli | unter 100 Coli | über 100 Coli |
| Lysol | 10 | 0 | 3 | 7 |
| Betalysol | 16 | 1 | 9 | 6 |
| Kresotinkresol | 12 | 0 | 4 | 8 |
| Phenolut | 10 | 0 | 6 | 4 |
| Karbol | 18 | 1 | 6 | 11 |
| zusammen: | 66 | 2 | 28 | 36 |

In der vorstehenden Tabelle sind die Ergebnisse der Desinfektionsversuche an 102 Händen (von zehn verschiedenen Versuchspersonen) in der Weise zusammengestellt, daß in der ersten Reihe die Fälle gezählt werden, in denen auf der von einer Hand angelegten Drigalski-Conradiplatte gar keine Colikolonien aufgingen, in der zweiten die Platten mit 1 bis 100, in der dritten die mit mehr als 100 Colikolonien. Es zeigen sich zwischen den einzelnen Mitteln, sobald gleich starke Lösungen verwendet werden, keine Unterschiede, die mit Sicherheit über die bei solchen Versuchen unvermeidbaren Zufälligkeiten hinausgehen; die 3prozentige Karbollösung wirkt etwas schlechter als die 2- bis 3prozentigen Lösungen der Kresolpräparate, während sie in den jetzigen Desinfektionsanweisungen der 5prozentigen Kresolseifenlösung (mit $2^1/_2$ Prozent Gehalt an reinen Kresolen) gleichgesetzt wird.

Die Wirkung der Präparate auf coliinfizierte Hände entspricht offenbar ihrer Desinfektionskraft in vitro, nur daß die Keime an den Händen außerordentlich viel schwerer abzutöten sind, und feinere Unterschiede dabei wegen mannigfacher Zufälligkeiten nicht sicher zutage treten.

Sehr deutlich sind aber die Unterschiede, wenn man die Wirkung der 5prozentigen und der 2- bis 3prozentigen Verdünnungen vergleicht. Rechnet man die Versuche mit den verschiedenen Mitteln zusammen, so ergibt sich folgende Übersicht:

| | 5%ige Lösungen: 36 Versuche | 2—3%ige Lösungen: 66 Versuche |
|---|---|---|
| Gute Erfolge, d. h. 0 Coli | 23 = 63·9% | 2 = 3% |
| Mittlere Erfolge, d. h. unter 100 Coli-Kolonien | 10 = 27·7% | 28 = 42·4% |
| Schlechte Erfolge, d. h. über 100 Coli-Kolonien | 3 = 8·3% | 36 = 54·6% |



Einige Versuche mit 1prozentigen Lösungen ergaben 100 Prozent schlechtere Erfolge im Sinne der Tabelle.

Wie schon hervorgehoben, zeigt sich die 3prozentige Karbollösung sehr viel schlechter wirksam als die 5prozentige Lysollösung (bzw. die übrigen Lösungen mit dem entsprechenden Kresolgehalt von $2^1/_2$ Prozent). Beide sind aber nebeneinander in den jetzt geltenden amtlichen Desinfektionsanweisungen angeführt, daneben ist als drittes Mittel 0·1prozentiges Sublimat zugelassen. Alle drei Lösungen sind von uns bereits früher in (noch nicht veröffentlichten) Versuchen in derselben Weise miteinander verglichen worden, nur mit dem Unterschied, daß bei den Versuchen mit Karbol und Kresolseifenlösung (nicht dagegen beim Sublimat) die Bürste benutzt wurde. In 96 Versuchen ergab sich Keimfreiheit (d. h. Freisein von Colikeimen) bei 3 prozent. Karbol in 6 Prozent, bei 5 prozent. Kresolseife in 50 Prozent und bei 0·1 prozent. Sublimat in 83 Prozent. In einer späteren Versuchsreihe waren die Ergebnisse beim Sublimat sogar noch besser.

Hiernach sind also die drei in den amtlichen Vorschriften zugelassenen Verfahren in ihrer Wirkung äußerst ungleich; das Sublimat ist bei weitem das beste Mittel. Unsere Untersuchungen bestätigen in dieser Hinsicht durchaus die von Flügge und seinen Mitarbeitern mitgeteilten Versuche. Das Sublimat hat außerdem, wie von Speck in Flügges Laboratorium festgestellt und von Börnstein sowie von uns in zahlreichen Versuchen bestätigt wurde, eine weitere, sehr wertvolle Eigenschaft, indem nämlich die in Sublimat getauchten Hände längere Zeit die Fähigkeit behalten, aufgebrachte Keime (Colibazillen) abzutöten. Die früher gegen das Sublimat wegen seiner Giftigkeit vorgebrachten Bedenken sind wohl mit Recht von Flügge zurückgewiesen worden; das Mittel sollte daher für die Händedesinfektion am Krankenbett möglichst in allen Fällen gebraucht werden. Wer Sublimat nicht verträgt, sollte, wenn möglich, Alkohol oder Seifenalkohol, beides etwa 80prozentig, benutzen, der nach Börnsteins und unseren Versuchen ausgezeichnet wirkt, jetzt freilich sehr knapp ist.

Die Kresolpräparate wirken in 5prozentiger Lösung zwar durchaus nicht vollkommen, aber doch für die Praxis einigermaßen befriedigend. Nach unseren Erfahrungen können wir aber keines der Ersatzmittel in dieser Konzentration zur Anwendung empfehlen, da sie alle die Hände bei öfterem Gebrauch ziemlich stark reizen.

Sie stehen darin entschieden hinter dem Lysol zurück, bei dem offenbar die Seife die Reizwirkung des Kresols etwas vermindert; trotz-



dem wurde übrigens auch der häufigere Gebrauch des Lysols in 5prozentiger Lösung von einem Teil unserer Versuchspersonen schon ziemlich unangenehm empfunden (während Sublimat auch bei lange fortgesetztem täglichen Gebrauch bei denjenigen, die es überhaupt vertragen, keine üblen Folgen hatte). Der unangenehme Geruch ist bei allen Kresolpräparaten etwa gleich; man kann denselben allerdings nach dem Vorgang von Schottelius durch nachfolgende Waschung mit Chlorwasser (etwa 10 Prozent) zum großen Teil beseitigen. Die Reizwirkung auf die Haut fanden wir beim Kresotinkresol eher etwas stärker, als bei dem etwas alkalischen Betalysol, das erste Mittel hat zudem noch den Nachteil, daß es die Hände bräunlich färbt. In besonderem Maße war das der Fall, wenn wir Lösungen benutzten, die seit dem vorhergehenden Tage in einer Schüssel gestanden hatten, auf deren Boden sich ein zäher brauner Bodensatz gebildet hatte. Wir möchten daher im Gegensatz zu Hüppe, der seinerzeit das Solveol als ein verhältnismäßig angenehmes und sogar fast geruchloses (!) Mittel zur Händedesinfektion empfahl, gerade die Kresotinkresole als wenig geeignet für diesen Zweck ansehen.

Im übrigen darf aber aus den recht unzulänglichen Ergebnissen, die wir mit 3prozentiger Karbolsäure und mit 2 bis 3prozentigen Lösungen der Kresolpräparate hatten, nicht etwa gefolgert werden, daß dieselben für die Praxis nahezu wertlos seien. Durch alle diese Mittel, so unvollkommen sie auch wirken, wird dennoch zweifellos der weitaus größte Teil aller Keime beseitigt, und das genügt in der Praxis in den allermeisten Fällen, da eben die Übertragung des Ansteckungsstoffes in der Regel durch grob verunreinigte Finger erfolgt. Unseres Erachtens sind daher da, wo die wirksameren Mittel sich nicht anwenden lassen, sowohl die 3prozentige Karbolsäure als auch 2 bis 3prozentige Lösungen der Kresolpräparate immerhin mit großem Nutzen zu verwenden.

Dafür, daß es in der Praxis hauptsächlich darauf ankommt, die Hauptmenge der Infektionserreger zu entfernen, spricht u. a. die Erfahrung, daß Typhusbazillenträger bei einiger Reinlichkeit, d. h. Benutzung von Wasser und Seife, für ihre Umgebung in der Regel ungefährlich sind. Zum Vergleich mit den soeben mitgeteilten Ergebnissen der Desinfektion mit schwachen Lösungen von Kresol und Karbol sei erwähnt, daß einfaches Waschen oder Bürsten mit Seife in fließendem Wasser in unseren Versuchen so mangelhaft wirkte, daß bei gleich starker Infektion, wie in den vorhergehenden Versuchen, die Colikeime in keinem einzigen Fall völlig beseitigt wurden. Wählten wir eine viel schwächere Infektion der Hände (mit etwa 100 bis 1000mal dünnerer



Bakterienaufschwemmung), so konnten wir in einer Versuchsreihe die Colikeime durch einfache Seifenwaschung in fließendem Wasser (72 Versuche) in 12·5 Prozent der Fälle so weit beseitigen, daß sie auf unseren Platten nicht mehr nachweisbar waren.

Die Frage der Beseitigung der an den Händen haftenden Krankheitskeime, die alsbald in einer ausführlichen Arbeit näher besprochen werden soll, ist hier bereits kurz erörtert worden, da sie von besonderer Bedeutung ist. Bei vielen Krankheiten ist ja die Übertragung durch beschmutzte Hände offenbar die gewöhnliche Art der Infektion, so daß hier die Wohnungsdesinfektion an Bedeutung gegenüber der Händedesinfektion völlig zurücktritt, um so mehr, als die Übertragung des an Kleidern, Betten, Wäsche usw. haftenden Ansteckungsstoffes vielfach wiederum erst durch die Hände erfolgt.

## Ergebnisse.

Nach den mitgeteilten Versuchen sind die beiden Mittel Betalysol und Kresotinkresol brauchbare, wenn auch nicht vollkommene Ersatzmittel für Kresolseifenlösung, bzw. Lysol. Das Betalysol erwies sich in unseren Versuchen als ebenso stark desinfizierend, wie eine zuverlässige, vor dem Kriege hergestellte Probe von Lysol, die zum Vergleich herangezogen wurde, während Kresotinkresol beträchtlich schwächer wirkte; doch dürfte auch die Wirkung des letzteren Mittels für die Praxis als genügend anzusehen sein.

In 3prozentiger Lösung töten beide Mittel widerstandsfähige sporenfreie Bakterien, die an Wollstoffen angetrocknet (und daher für die Desinfektionsmittel schwer zugänglich) sind, innerhalb von 2 Stunden annähernd sicher ab; durch die gleichen Lösungen werden Kleiderläuse schon in einer Stunde getötet, während Nissen bereits in schwächeren Lösungen und in kürzerer Zeit zugrunde gehen. Beide Mittel schädigen auch bei erheblich längerer Einwirkung empfindliche Stoffe in keiner Weise. Hiernach sind die beiden Mittel in der angegebenen Konzentration zur Desinfektion und Entlausung von Kleidern, Wäsche und Ledersachen zu verwenden; für Großbetriebe käme auch die Verwendung schwächerer Lösungen in Frage, wenn dieselben dauernd erwärmt gehalten werden.

Da beide Mittel, vor allem das Kresotinkresol, sich erheblich langsamer lösen, wie Kresolseife, so sind die Lösungen, wenn sie in Flaschen angesetzt werden, sorgfältig vielfach zu schütteln, wenn in Schüsseln oder Bottichen, desgleichen zu rühren; im letzteren Falle ist zuerst das



Wasser (oder besser noch zunächst etwa die Hälfte davon) einzufüllen, danach das Desinfiziens. Lösungen, die längere Zeit gestanden haben, sind vor nochmaligem Gebrauch wiederum zu schütteln, da sich bei beiden Mitteln (anders wie bei Kresolseife) ein Niede schlag am Boden absetzt. Eine Abschwächung der Desinfektionskraft haben wir jedoch bei Lösungen, die bis zu einigen Wochen in gut verschlossenen Flaschen gestanden hatten, nicht beobachtet.

In 5prozentigen Lösungen von Kresotinkresol setzt sich allmählich ein ziemlich starker, zäher brauner Bodensatz ab, wodurch die Verwendung so starker Lösungen beeinträchtigt wird, das Betalysol ergibt zu 5 Prozent überhaupt keine klare Lösung, sondern eine Emulsion, es würde daher in dieser Form nur für gewisse Zwecke der sog. groben Desinfektion, insbesondere der Desinfektion von Stuhlentleerungen in Frage kommen.

Soweit uns bekannt ist, sind beide Mittel in größeren Mengen vorhanden; es würde jedenfalls im allgemeinen Interesse liegen, den Herstellern erforderlichenfalls die nötigen Rohstoffe in genügender Menge zugänglich zu machen.

Zur Händedesinfektion ist das Kresotinkresol kaum geeignet, da es die Hände etwas bräunlich färbt und anscheinend auch noch etwas stärker die Haut reizt als das Betalysol. Auch dieses letztere Mittel ist aber stärker reizend als Kresolseife und daher auf die Dauer in höchstens 3prozentiger Lösung zu verwenden. Es wirkt dann erheblich schlechter als die in den amtlichen Anweisungen vorgeschriebene 5prozentige Kresolseifenlösung (mit $2^1/_2$ Prozent Kresolgehalt), aber etwas besser als die gleichfalls zugelassene 3prozentige Karbolsäure. Alle diese Lösungen wirken aber nach unseren eingehenden Versuchen auf infizierte Hände nur recht unvollkommen; wie schon Flügge nachdrücklich hervorgehoben hat, ist ihnen hierin die 0·1prozentige Sublimatlösung weit überlegen; daneben ist hochprozentiger Alkohol (von etwa 80 Prozent) ein ausgezeichnetes Händedesinfiziens. Die Sublimatlösung ist, da sie vielfach hintereinander benutzt werden kann, im Gebrauch sparsam; sie sollte daher für die Händedesinfektion am Krankenbette in erster Linie benutzt, und andere Mittel (wie Karbol und Betalysol in 3prozentiger Lösung) nur als Ersatz für besondere Fälle zugelassen werden, insbesondere für Personen, die Sublimat nicht vertragen.

Was die sonstigen Desinfektionsmaßnahmen, insbesondere die Zimmerdesinfektion betrifft, so ist in den amtlichen Anweisungen überall neben der als „verdünntes Kresolwasser" bezeichneten Kresolseifenlösung auch die viel schwächer wirksame 3prozentige Karbolsäure zugelassen; es dürften daher



wohl auch hier 3prozentige Lösungen der beiden Ersatzmittel Kresotinkresol und Betalysol zugelassen werden können. Für die Desinfektion der Stuhlentleerungen, die besonders wichtig, aber auch besonders schwierig ist, würden allerdings besser 5prozentige Karbol- und Kresollösungen (bzw. auch Emulsionen) vorzuschreiben sein.

Das Phenolut kommt unserer Ansicht nach für die allgemeine Desinfektion nicht in Frage, da es aus verschiedenen Schichten von ganz ungleicher Wirkung besteht, und gleichmäßige Lösungen sich daraus nicht ohne weiteres herstellen lassen. Es könnte nur in denjenigen Fällen in Anwendung kommen, wo jedesmal der ganze Inhalt einer Flasche zur Herstellung einer Lösung verbraucht wird.

---

Nachtrag bei der Korrektur. Wir können uns aus den angegebenen Gründen der günstigeren Beurteilung, die das Phenolut in einer während der Drucklegung dieser Arbeit erschienenen Mitteilung von Schürmann[1] gefunden hat, nicht anschließen.

Auch bezüglich des von Ditthorn neuerdings[2] empfohlenen Fawentols haben Versuche im Institut[3] zu weniger günstigen Ergebnissen geführt; gleichzeitig wurde dabei die erhebliche Überlegenheit des Betalysols gegenüber dem Kreastinkresol wiederum bestätigt. Zum gleichen Ergebnis ist inzwischen auch Schottelius[4] gekommen.

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. LXXXIV. H. 1. S. 14.
[2] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1917. Nr. 40.
[3] Neufeld und Karlbaum, *Ebenda,* im Druck.
[4] *Ebenda.* Nr. 49.

## Literaturverzeichnis.

Abba und Rondelli, *Zentralbl. f. Bakt.* Orig.-Bd. XXXIII. S. 821.

Arnold, *Desinfektion V.* 1912. S. 37.

Behring, *Über Desinfektion, Desinfektionsmittel und Desinfektionsmethoden.* Gesammelte Abhandlungen. S. 252.

Börnstein, *Diese Zeitschr.* Bd. LXXIX. S. 145.

Croner, *Lehrbuch der Desinfektion.* S. 174 und 194; vgl. auch Schneider, *Diese Zeitschr.* Bd. LIII. S. 131.

Fiedler, *Deutsche med. Wochenschr.* 1917. Nr. 11. S. 335.

Flügge, *Diese Zeitschr.* Bd. L. S. 381.

Halberkann, *Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene.* Bd. XX. Beiheft.

Hammer, *Arch. f. Hyg.* 1892. Bd. XIV. S. 116.

Hiller, *Deutsche med. Wochenschr.* 1892. Nr. 37.

Hüppe, *Berliner klin. Wochenschr.* 1893. Nr. 21.

Ottolenghi, *Desinfektion.* Bd. IV. 1911.

Schneider, *Arch. f. Hyg.* Bd. LXVII. S. 1; *Diese Zeitschr.* Bd. LIII. S. 116.

Speck, *Diese Zeitschr.* Bd. L. S. 502.

Schürmayer, *Arch. f. Hyg.* Bd. XXV.

Schütz, *Hyg. Rundschau.* 1896. S. 289.

Vahle, *Ebenda.* 1893. S. 901.



# Zur Frage der Blutinfektion mit Gas-Ödem-Bazillen bei der Gas-Ödem-Erkrankung.

Von

**F. Klose,**

Oberarzt, kommandiert zur Kaiser-Wilhelms-Akademie für das militärärztliche Bildungswesen.

---

Trotzdem schon in Friedenszeiten der Übertritt von Anaeroben in die Blutbahn im Verlauf der Gasbazilleninfektion durch Bingold auf der Schottmüllerschen Klinik für den Welch-Fränkelschen Gasbrandbacillus in weit über 60 Fällen von infizierten Aborten sichergestellt werden konnte, ist dieser Tatsache jetzt im Kriege bei der bakteriologischen Untersuchung der Gas-Ödem-Erkrankungen der Verwundeten bisher nur in recht unvollkommener Weise Rechnung getragen worden. Man hat sich daran gewöhnt, die durch die Gas-Ödem-Bazillen erzeugte anaerobe Wundinfektion als eine rein lokale Erkrankung anzusprechen, bei der die Resorption der am Krankheitsherd von den Gas-Ödem-Bazillen gebildeten giftigen Stoffwechselprodukte durch ihren deletären Einfluß auf den Organismus den tödlichen Ausgang bedingte, und man hat sich dementsprechend meistens damit begnügt, das erkrankte Wundgewebe der bakteriologischen Untersuchung auf die Erreger zu unterwerfen. In der Richtigkeit dieser Annahme wurde man dadurch bestärkt, daß die während des Lebens von einzelnen Autoren vorgenommenen Blutuntersuchungen nur sehr selten ein positives Ergebnis hatten, und daß diese positiven Erkrankungsfälle zudem auch meistens nur in der Agone untersucht worden waren, also zu einer Zeit, aus der bindende Schlüsse auf den Übertritt der Gas-Ödem-Bazillen im Verlauf der Erkrankung nicht abzuleiten waren. Auch wir konnten durch Verimpfung von steril entnommenem Venenblut in hochgeschichteten 3prozent. Agar mit und ohne 1 Prozent Trauben-



zuckerzusatz zunächst nur ausnahmsweise positive Befunde von Gas-Ödem-Bazillen bei sicheren Gas-Ödem-Erkrankungen erheben, solange wir die allgemein gebräuchliche Technik der Anlegung von Schüttelröhrchenkulturen befolgten. Erst als wir dazu übergingen, den Blutkuchen an sich als Anreicherungsmittel für die zunächst wohl in den ersten Stadien der Erkrankung nur periodisch und spärlich im Blut vorhandenen Gas-Ödem-Bazillen zu benutzen, gelang es uns, die positiven Ergebnisse dieser Untersuchungen erheblich zu mehren.

Die von uns dabei befolgte Technik ist folgende: Das unter sterilen Kautelen aus der V. mediana cubiti entnommene Blut, durchschnittlich 10 ccm, wurde in einem sterilen Röhrchen aufgefangen, und vor der Verarbeitung die Abscheidung in Blutkuchen und Serum abgewartet. Darauf wurde der Blutkuchenzylinder in toto in flüssigen, leicht alkalischen 3 prozentigen Nähragar in hoher Schicht versenkt und in den Brutschrank bei 37° eingebracht. Zur Feststellung von etwa gleichzeitig vorhandenen aeroben Keimen wurden von dem Blutserum ein Oberflächenagar-, ein Blutbouillonröhrchen und ein mit 1 ccm Blutserum beschicktes Nähragarschüttelröhrchen angelegt. Nach dem Ergebnis der Untersuchungen erwies sich das Blutserum in weitaus der größten Zahl der Fälle als frei von Anaeroben; dieselben waren vielmehr in den Blutkuchen beim Absetzen mit niedergerissen. So wurde durch seine Verimpfung gleichzeitig in dem für die Anaeroben so günstigen Nährboden, wie ihn der Blutkuchen darstellt, eine Anreicherung auch von nur spärlich vorhandenen Keimen erreicht. Das Vorhandensein von Gas-Ödem-Bazillen gab sich durch Gasbildung und je nach der chemischen Eigenart des Stammes auch durch peptische Verflüssigung des Blutzylinders, die nach 48 Stunden bis 4 Tagen einsetzt, kund.

Auf diese Weise wurden in 80 Fällen von klinisch sicherer Gas-Ödem-Erkrankung während des Lebens Blutuntersuchungen auf das Vorkommen von Gas-Ödem-Bazillen vorgenommen. Positive, bei der Sektion aus steril entnommenem Herzblut gewonnene Ergebnisse lasse ich als nicht beweiskräftig hier unberücksichtigt, da die Einwanderung der Gas-Ödem-Bazillen in den Organismus nach dem Tode sehr rasch vonstatten zu gehen pflegt, so daß eine Grenze für die Bewertung der Befunde mit Sicherheit nicht festzusetzen ist.

Von den 80 zur Untersuchung gelangten Blutproben zeigten 48 = 60 Prozent ein positives Ergebnis von Gas-Ödem-Bazillen (vgl. Aufstellung), die 4 mal mit Streptokokken vergesellschaftet vorgefunden wurden.

Aufstellung. Positive Blutbefunde.

| Lfde. Nr. | Name | Verletzung fand statt | | Sitz der Verletzung | Gas-Ödem-Erkrankung festgestellt | | Blutentnahme fand statt | Behandlung | Ausgang | Bakteriologischer Befund | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | durch | am | | am | wo | | | | aerob | anaerob |
| 1. | H. | Granate | 11. 7. 16 | Rechter Oberschenkel ohne Fraktur | 13. 7. 16 | Rechter Oberschenkel | 13. 7. 16 | Spaltung des Schußkanals | Heilung | — | Stamm zur Putrifikusgruppe gehörig. |
| 2. | K. | „ | 2. 7. 16 | Linker Unterarm mit Radiusbruch | 6. 7. 16 Verdacht auf G.-Ö. | Linker Unterarm | 6. 7. 16 | unbekannt | Heilung | — | dasselbe |
| 3. | R. | „ | 12. 7. 16 $6^{00}$ | Linker Unterschenkel | 13. 7. 16 $6^{00}$ | Linker Unterschenkel | 13. 7. 16 $6^{00}$ | Amputation im oberen Drittel des Oberschenkels | Heilung | — | „ |
| 4. | H. | „ | ? | Rechter Unterarm, beide Oberschenkel, linker Unterschenkel | 30. 8. 16 | Linker Unterschenkel | 30. 8. 16 | Amputation des linken Unterschenkels | † 30. 8. 16 | — | „ |
| 5. | Hau. | „ | 27. 8. 16 | Rechter Unterschenkel komplizierter Bruch | 29. 8. 16 | Rechter Unterschenkel | 29. 8. 16 | Amputation an der Grenze des mittleren und oberen Drittels d. Unterschenkels | Heilung | — | „ |

| Lfde. Nr. | Name | Verletzung fand statt | | Sitz der Verletzung | Gas-Ödem-Erkrankung festgestellt | | Blutentnahme fand statt | Behandlung | Ausgang | Bakteriologischer Befund | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | durch | am | | am | wo | | | | aerob | anaerob |
| 6. | B. | Granate | 4. 8. 16 | Weichteilverletzung rechter Oberarm | 11. 8. 16 | Rechter Oberarm 13. 8. 16 Linkes Bein | 14. 8. 16 $11^{00}$ | Gas-Ödem-Erkrankung am rechten Oberarm klingt auf Inzisionen ab. Danach am 13. 8. 16 Kochsalzinfusion am linken Oberschenkel, von dieser Stelle ausgehend G.-Ö. | † 14. 8. 16 $5^{25}$ | — | Welch-Fränkelscher Gasbrandbacillus |
| 7. | Th. | Infant.-Geschoß | 27. 7. 16 | Linker Oberarm, komplizierter Bruch | 30. 7. 16 | Linker Oberschenkel | 30. 7. 16 | Wundrevision, Streckverband | Heilung | — | Stamm zur Putrifikusgruppe gehörig |
| 8. | J. | Granate | 16. 8. 16 | Rechter Oberschenkel und Gesäß | 19. 8. 16 | Rechter Oberschenkel | 19. 8. 16 kurz vor dem Tode | Spaltung des Wundkanals | † | — | Blut: Stamm zur Putrifikusgruppe gehörig. Wundgewebe: dass. u. Welch-Fränkelscher Gasbrandbac. |
| 9. | K. | " | 16. 7. 16 | Linker Oberarm mit Fraktur | 17. 7. 16 | Linker Oberarm | 17. 7. 16 | Wundrevision | Heilung | — | Welch-Fränkelscher Gasbrandbacillus |
| 10. | Sch. | " | 24. 8. 16 morgens | Linker Oberschenkel | 28. 8. 16 | Linker Oberschenkel | 30. 8. 16 | Inzisionen, Wundrevision | † 2. 9. 16 $12^{45}$ | — | Stamm zur Putrifikusgruppe gehörig. |
| 11. | Ho. | " | 28. 8. 16 | Rechter Oberschenkel mit komplizierter Fraktur | 2. 9. 16 | Rechter Oberschenkel | 2. 9. 16 | lag 4 Tage im Freien, Amputat. im oberen Drittel d. Oberschenkels | † 2. 9. 16 $6^{05}$ | — | Welch-Fränkelscher Gasbrandbacillus |

| 12. | O. | Granate | 3. 9. 16 | Rechter Oberschenkel, linker Unterarm mit Speichenbruch | 5. 9. 16 | Rechter Oberschenkel | 5. 9. 16 | Amputation | Heilung | — | Stamm z. Rauschbrandbacillusgruppe gehörig. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 13. | Bu. | „ | 5 9. 16 | Rechte Wade, linkes Kniegelenk, rechte Achselhöhle, linke Hand | 7. 9. 16 | Rechte Wade | 7. 9. 16 | Spaltung | „ | — | Welch-Fränkelscher Gasbrandbacillus |
| 14. | S. | „ | 3. 9. 16 | Rechte Kniescheibe, Fraktur mit Beteiligung des Gelenkes | 5. 9. 16 | Kniegelenk | 5. 9. 16 | Wundrevision, Freilegung des Kniegelenkes | „ | — | Stamm z. Rauschbrandbacillusgruppe gehörig. |
| 15. | Ha. | „ | 3. 9. 16 | Linker Oberarm mit Fraktur | 5. 9. 16 | Linker Oberschenkel | 5. 9. 16 | Wundrevision, von Amputation wegen des schlechten Allgemeinzustandes abgesehen | † 6. 9. 16 $1^{00}$ | — | dasselbe. |
| 16. | M. | „ | 13. 3. 16 | nicht bekannt | nicht | bekannt | nicht bekannt | | Heilung | — | „ |
| 17. | Bü. | Gewehrgranate | 19. 8. 16 | Kopf, rechtes Bein | 24. 8. 16 | Rechter Oberschenkel | 24. 8. 16 | Von der Amputation wird wegen d. schlechten Allgemeinzustandes abgesehen | † 26. 8. 16 | | Stamm zur Putrifikusgruppe gehörig. |
| 18. | E. | Granate | 22. 9. 16 $2^{30}$ | Linkes Bein | 26. 9. 16 $6^{00}$ | Linkes Bein | 26. 9. 16 $12^{30}$ | unbekannt | † | — | dasselbe |
| 19. | Hof | „ | 27. 9. 16 $7^{30}$ | Gesäß | 2. 10. 16 $12^{30}$ | Gesäß in umschriebenem Bezirk | 2. 10. 16 $12^{30}$ | Ausschneiden der erkrankten Muskelpartie | Heilung | — | Stamm K. I. |
| 20. | Re. | „ | 11. 10. 16 $4^{00}$ | Rechter Unterschenkel mit Fraktur | 13. 10. 16 $6^{00}$ | Rechter Unterschenkel | 13. 10. 16 $6^{30}$ | Amputation des rechten Beines, Mitte des Oberschenkels | „ | — | Stamm zur Putrifikusgruppe gehörig. |

| Lfde. Nr. | Name | Verletzung fand statt | | Sitz der Verletzung | Gas-Ödem-Erkrankung festgestellt | | Blutentnahme fand statt | Behandlung | Ausgang | Bakteriologischer Befund | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | durch | am | | am | wo | | | | aerob | anaerob |
| 21. | Rec. | Granate | 15. 10. 16 $3^{00}$ | Ellenbogengelenk mit Fraktur | 16. 10. 16 $10^{00}$ | Oberarm | 16. 10. 16 $10^{00}$ | Ausschneiden der erkrankten Muskelpartie | Heilung | — | Stamm zur Putrifikusgruppe gehörig. |
| 22. | P. | „ | 14. 10. 16 | Rechter Ober- und Unterarm | 16. 10. 16 | Rechter Unterarm | 16. 10. 16 | Amputation im unteren Drittel des Oberarmes | „ | — | dasselbe |
| 23. | Ks. | „ | 10. 10. 16 $10^{00}$ | Linker Oberschenkel, Steckschuß, Lunge rechts | 18. 10. 16 $4^{30}$ | Linker Oberschenkel | 18. 10. 16 $6^{30}$ | Hohe Amputation des Oberschenkels | „ | — | Welch-Fränkelscher Gasbrandbacillus. |
| 24. | A. | „ | 14. 10. 16 | Oberschenkel mit komplizierter Fraktur | 16. 10. 16 | Oberschenkel | 16. 10. 16 | unbekannt | † | — | Stamm zur Rauschbrandbacillusgruppe gehörig |
| 25. | N. | „ | 21. 10. 16 $4^{30}$ | Linker Oberarm mit Fraktur, rechte Lendengegend u. rechter Fuß | 24. 10. 16 $10^{00}$ | Linker Oberarm | 24. 10. 16 $10^{00}$ | Ausschneiden der erkrankten Muskelpartien | Heilung | — | Stamm zur Putrifikusgruppe gehörig |
| 26. | Ma. | „ | 20. 10. 16 nachts | Linker Unterschenkel, Wadenmuskulatur | 23. 10. 16 $6^{00}$ nachm. | Linker Unterschenkel | 23. 10. 16 $7^{00}$ | Amputation | „ | — | dasselbe |
| 27. | Rd. | „ | 19. 10. 16 $6^{30}$ | Linker Oberschenkel mit Fraktur | 24. 10. 16 $9^{00}$ | Linker Oberschenkel | 24. 10. 16 $11^{00}$ | unbekannt | „ | — | Stamm zur Rauschbrandbacillusgruppe gehörig |
| 28. | Th. | „ | 23. 10. 16 $5^{30}$ | Steckschuß im rechten Brustmuskel | 24. 10. 16 $11^{00}$ | M. Pectoralis maj. | 24. 10. 16 $11^{00}$ | „ | „ | — | dasselbe |

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 29. | Pr. | „ | 22. 10. 16 $5^{00}$ | Beide Beine, linke Schulter, Bruststeckschuß | 25. 10. 16 nachts | unbekannt | 26. 10. 16 vorm. | „ | † 26. 10. 16 | — | dasselbe |
| 30. | Th. | „ | 28. 10. 16 $9^{00}$ | Zertrümmerung d. rechten Fußes, Bruch d. rechten Unterschenkels, Verletzungen linker Fuß, Unterschenkel, Arm und Hand | 30. 10. 16 $10^{30}$ | Beide Unterschenkel | 30. 10. 16 $10^{30}$ | Amputation des rechten Unterschenkels, links Inzisionen, Pat. fast pulslos | † 31. 10. 16 | — | „ |
| 31. | Schu. | „ | 21. 10. 16 $4^{00}$ | Linker Unterarm m. kompliziertem Bruch, linke Hand, Gesäß, Oberschenkel | 23. 10. 16 $4^{00}$ | Linke Hand | 23. 10. 16 $5^{00}$ | Amputation der linken Hand | Heilung | — | „ |
| 32. | Hän. | „ | 22. 10. 16 | Rechter Oberschenkel mit Fraktur | 27. 10. 16 | Rechter Oberschenkel | 27. 10. 16 | Amputation | † 28. 10. 16 | — | Stamm zur Putrifikusgruppe gehörig |
| 33. | Neu. | „ | 21. 10. 16 | Linker Ober- u. Unterschenkel | 31. 10. 16 | Kleiner Herd im M. gastrocnemius | 31. 10. 16 | Amputation | † 4. 11. 16 | — | dasselbe |
| 34. | Lo. | „ | 28. 10. 16 | Rechte Gesäßseite | 31. 10. 16 | Rechtes Gesäß | 31. 10. 16 | Ausschneidung der erkrankten Muskelpartie | Heilung | Streptokokken | Stamm zur Rauschbrandbacillusgruppe gehörig |
| 35. | Be. | „ | 22. 10. 16 | Gesäß | 26. 10. 16 $9^{00}$ | Gesäß | 28. 10. 16 $3^{00}$ | unbekannt | † $5^{55}$ 28. 10. 16 | — | Stamm zur Putrifikusgruppe gehörig |
| 36. | K. | „ | 26. 10. 16 | Gesäß | 30. 10. 16 $11^{00}$ | Gesäß, Gasabzeß | 30. 10. 16 $11^{00}$ | „ | † $12^{55}$ 31. 10. 16 | — | dasselbe |
| 37. | D. | „ | 23. 10. 16 | Linker Fuß, Hüfte, Unterarm, Rippen | 1. 11. 16 vorm. | Linker Unterarm | 2. 11. 16 nachm. | Amputation des linken Fußes | † 3. 11. 16 $1^{00}$ | — | Welch-Fränkelscher Gasbrandbacillus |
| 38. | Be. | Verbr. d. Leuchtpistole | 26. 10. 16 $8^{00}$ | Linker Oberschenkel | 1. 11. 16 $11^{00}$ | Linker Oberschenkel | 2. 11. 16 $11^{00}$ | unbekannt | † 2. 11. 16 | — | Stamm zur Putrifikusgruppe gehörig |
| 39. | Hem. | Granate | 29. 10. 16 abends | Rechter Ober- u. Unterschenkel, rechter Oberarm | 2. 11. 16 | Rechter Oberschenkel | 2. 11. 16 | Ausschneidung des erkrankten Muskels | Heilung | Streptokokken | dasselbe |

| Lfde. Nr. | Name | Verletzung fand statt | | Sitz der Verletzung | Gas-Ödem-Erkrankung festgestellt | | Blutentnahme fand statt | Behandlung | Ausgang | Bakteriologischer Befund | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | durch | am | | am | wo | | | | aerob | anaerob |
| 40. | Ba. | Granate | 29. 10. 16 5⁰⁰ | Rechtes Bein | 1. 11. 16 9⁰⁰ | Rechtes Bein | 1. 11. 16 5⁰⁰ | unbekannt | † 3. 11. 16 | — | Stamm zur Putrifikusgruppe gehörig |
| 41. | Ke. | „ | 31. 11. 16 | Rechter Fuß u. linker Unterschenkel mit Fraktur | 6. 11. 16 | Rechter Unterschenkel | 6. 11. 16 | Amputation des Unterschenkels | Heilung | — | dasselbe |
| 42. | W. | Schrappnell | 7. 11. 16 vorm. | Rechter Oberschenkel, linker Unterschenkel und Fuß | 11. 11. 16 11⁰⁰ | Linker Unterschenkel | 11. 11. 16 11⁰⁰ | Amputation | † 11. 11. 16 12¹⁵ | — | „ |
| 43. | Ke. | Granate | 10. 11. 16 10³⁰ | Linke Hüfte | 11. 11. 16 9⁰⁰ | Hüfte | 11. 11. 16 2⁰⁰ | Ausschneiden der erkrankten Muskelpartie | Heilung | — | Stamm zur Rauschbrandbacillusgruppe gehörig |
| 44. | Sche. | Erfrorene Füße | Nacht v. 24. z. 25. 11. 16 | Füße | 30. 11. 16 | Linker Oberschenkel | 30. 11. 16 11⁰⁰ | Amputation des rechten Fußes | † 30. 11. 16 5¹⁵ | — | Stamm zur Putrifikusgruppe gehörig |
| 45. | Schm. | Granate | 5. 11. 16 7³⁰ | Rechter Unterschenkel | 18. 11. 16 | Rechter Unterschenkel | 18. 11. 16 12⁰⁰ | unbekannt | unbekannt | — | dasselbe |
| 46. | Re. | „ | 4. 12. 16 10³⁰ | Beide Unterschenkel | 6. 12. 16 6³⁰ | Rechter Unterschenkel | 6. 12. 16 8³⁰ | Unter chirurgischen Maßnahmen geht das Gas-Ödem am rechten Unterschenkel zurück. Am 12. 12. plötzlich Gasödem am linken Oberschenkel | † 13. 12. 16 3²⁰ | Streptokokken | „ |
| 47. | We. | „ | 2. 12. 16 | Linke Ferse | 7. 12. 16 10⁰⁰ | Linker Unterschenkel | 7. 12. 16 11⁰⁰ | Amputation | Heilung | Streptokokken | „ |
| 48. | Schm. | „ | 12. 12. 16 2⁰⁰ | Unterschenkel | 13. 12. 16 11⁰⁰ | Unterschenkel | 13. 12. 16 12⁰⁰ | Amputation | „ | – | „ |

So zeigt die hohe Zahl der positiven Blutbefunde, daß der Einbruch der Anaeroben in die Blutbahn viel öfter vorkommt, als wir bisher angenommen haben, um so mehr, als die vorgenommenen Untersuchungen ohne Auswahl klinisch schwere und leicht verlaufende Fälle umfaßten. Die Blutentnahme selbst fand zu verschiedenen Zeiten der Erkrankung statt, jedoch wurde Wert darauf gelegt, daß das Blut möglichst frühzeitig entnommen wurde. So erfolgte die Venenpunktion, wie dies die Aufstellung zeigt, bei den positiven Befunden gleichzeitig mit dem klinisch ersten Sichtbarwerden des Propagierens der anaeroben Wundinfektion im

| | |
|---|---|
| Gewebe | 8 mal |
| 1 Stunde danach | 5 ,, |
| 2 Stunden danach | 3 ,, |
| 3 ,, ,, | 1 ,, |
| 6 ,, ,, | 2 ,, |
| am gleichen Tage mit dem Auftreten der Gas-Ödem-Erkrankung | 22 ,, |
| 1 Tag danach | 3 ,, |
| 2 Tage danach | 1 ,, |
| 3 ,, ,, | 1 ,, |
| 6 Stunden vor dem Tode | 1 ,, |

Aus den positiv Frühbefunden, d. h. aus den Fällen, in denen ein positiver Gas-Ödem-Bazillenbefund im Blut erhoben werden konnte, zu einer Zeit, wo sich auch erst klinsich das Propagieren der Infektion im Wundgewebe kundgab, dürfen wir wohl mit einiger Berechtigung die Schlußfolgerung ableiten, daß der Übertritt der Gas-Ödem-Bazillen in das Blut unter Umständen schon in einem sehr frühen Krankheitsstadium erfolgen kann, jedenfalls lange vor dem Einsetzen des Stadiums der Respiratio magna, in dem Pribram positive Züchtungsresultate aus dem Blut erheben konnte. Neben dem Typ des Erregers scheint mir für den Zeitpunkt der Einwanderung der Anaeroben ins Blut vor allem die Schwere der Verwundung und die Höhe des damit verbundenen Blutverlustes ausschlaggebend zu sein, da dadurch die natürliche Widerstandskraft des Organismus gegen eine anaerobe Blutinfektion ganz erheblich herabgemindert wird. Das beweisen auch entsprechende Versuche an Meerschweinchen. Entnimmt man diesen nämlich eine Stunde nach der intramuskulären Infektion mit Gas-Ödem-Bazillen 4 ccm Blut aus der Carotis, so erfolgt der Übertritt der anaeroben Keime und damit der Exitus der Tiere viel rascher als bei den Kontrolltieren.

Was die Klassifizierung dieser aus dem strömenden Blut gezüchteten Anaerobenstämme anbelangt, so erfolgte diese nach den in einer früheren



Veröffentlichung[1] mitgeteilten Gesichtspunkten unter Zugrundelegung ihres serologischen Verhaltens, das zum Teil in gemeinschaftlicher Arbeit mit den Herren Prof. Ruppel und Dr. Joseph ermittelt wurde. Ich benutze daher zur Einordnung der aus dem Blut gezüchteten Gas-Ödem-Bazillenstämme hier die in der erwähnten Arbeit aufgestellte Gruppeneinteilung in

1. Gruppe des Welch-Fränkelschen Gasbrandbacillus.
2. ,, Sie umfaßt die in ihrem chemischen Verhalten dem Rauschbrandbacillus nahestehenden und durch tierisches Rauschbrandserum beeinflußten Gas-Ödem-Bazillenstämme.
3. ,, Sie umfaßt tierpathogene, anaerobe Bakterien, die in ihrem chemischen Verhalten dem Bac. putrifikus Bienstock nahestehen und auch serologisch von Putrifikusserum beeinflußt werden.
4. ,, K. I.

Den größten Prozentsatz zu den positiven Blutbefunden, nämlich 29 = 60·4 Prozent, stellt, wie die Aufstellung erkennen läßt, die Gruppe 3. Ihr folgt die Gruppe 2 mit 12 = 25 Prozent, während auf Gruppe 1 nur 6 = 12·5 Prozent und auf Gruppe 4 nur 1 = 2·1 Prozent entfallen. So zeigen demnach die der Putrifikusgruppe zugerechneten Gas-Ödem-Bazillenstämme die größte Neigung zum Übertritt in die Blutbahn, wie das auch weiter Fall 8 beweist. Bei dieser Erkrankung handelte es sich um eine Mischinfektion. Es konnte im Wundmaterial der Welch-Fränkelsche Gasbrandbacillus in Symbiose mit einem Stamm der Putrifikusgruppe nachgewiesen werden, von denen die Blutuntersuchung nur das Vorhandensein des letzteren Stammes im strömenden Blut ergab.

Zu einem den beim Menschen erhobenen Befunden entsprechenden Ergebnis führten auch Tierversuche, die mit den verschiedenen Typen der Erreger angestellt wurden. Während bei intramuskulärer Infektion von Meerschweinchen mit Stämmen der Putrifikus- und Rauschbrandbazillengruppe schon 3 Stunden nach der Infektion die Bakterien kulturell im Carotisblut festzustellen waren, glückte dieser Nachweis im strömenden Blut bei Infektionen mit dem Welch-Fränkelschen Gasbrandbacillus verhältnismäßig erst bedeutend später, meist erst in der Agone. Das erklärt wohl auch die Tatsache, daß selbst auf der Höhe der durch den Welch-Fränkelschen Gasbrandbacillus erzeugten Erkrankung die Tiere durch

[1] Heft 68 der *Veröffentl. auf dem Gebiete des Mil.-San.-Wesens.*



einen Scherenschlag, der dem toxin- und bakterienreichen Exsudat Abfluß verschafft und den Krankheitsprozeß freilegt, vor dem Tode zu retten sind.

So sehen wir, daß beim Tier wie beim Menschen hinsichtlich der Schnelligkeit und Neigung des Übertritts der Gas-Ödem-Bazillen in die Blutbahn zwischen ihren einzelnen Gruppen ein differentes Verhalten besteht.

Durch den nachgewiesenen hohen Prozentsatz positiver Blutbefunde erhalten aber auch die in der Literatur niedergelegten Fälle von Metastasenbildung bei den durch die Gas-Ödem-Bazillen bedingten Wundinfektionen, denen sich die von mir untersuchten Fälle Nr. 6 und 46 der Aufstellung anreihen, ihre Aufklärung. Die mangelhafte Durchblutung eines Gebietes, z. B. der Gesäßgegend, durch den Druck beim Liegen, der tiefe Stich einer Kochsalzinfusion in die Muskulatur kann dann genügen, um einen Locus minoris resistentiae und damit eine Ansiedelung der im Blut kreisenden Anaeroben, also eine Metastase, zu erzeugen. Daß dieselben im Verhältnis zu der hohen Zahl positiver Blutbefunde trotzdem so selten beobachtet werden, erklärt sich wohl damit, daß mit dem Einbruch der Bazillen in die Blutbahn, wenn die Erkrankung sich selbst überlassen bleibt, das Schicksal der Patienten besiegelt ist und der Exitus so schnell eintritt, daß eine volle Ausbildung metastatischer Erkrankungsherde nicht mehr erfolgen kann. Auch das Auftreten der von den Chirurgen so sehr gefürchteten Stumpfrezidive bei Amputationen, die infolge von Gas-Ödem-Erkrankung der Gliedmaßen vorgenommen werden müssen, sind durch die positiven Blutbefunde des Frühstadiums ihrer Erklärung näher gebracht. Sind die Anaeroben schon vor der Amputation in den Blutkreislauf gelangt, so wird der Amputationsstumpf für die im Blut noch kreisenden Bazillen zum Locus minoris resistentiae, in dem sie die für ihr Fortkommen günstigen Bedingungen vorfinden. Es kommt zum Wiederaufflackern des Prozesses, trotzdem anscheinend völlig im gesunden operiert wurde.

Anderseits beweisen die trotz des positiven Blutbefundes durch chirurgische Maßnahmen erzielten 26 = 54 Prozent Heilungen von der durch die Gas-Ödem-Bazillen erzeugten Wundinfektion, daß eine gewisse Zahl von Keimen von den natürlichen Schutzkräften des Blutes vernichtet werden kann, wenn der Erkrankungsherd, von dem aus ein ständiger Nachschub von Bakterien in die Blutbahn erfolgt, radikal entfernt wird. Ob zwischen der Resorption des von den Bakterien am Ort der Erkrankung gebildeten Toxins und ihrem Einbruch in die Blutbahn vielleicht eine Parallele besteht in dem Sinn, daß das Toxin imstande ist, die normalen Schutzkräfte des Blutes herabzusetzen oder zu lähmen, wird den Gegenstand weiterer Untersuchungen bilden müssen.



Daß das hier in einem Abschnitt der Westfront beobachtete häufige Auftreten der Gas-Ödem-Bazillen im Blute in gleicher Weise auch für die anaeroben Wundinfektionen anderer Kriegsschauplätze Gültigkeit hat, hängt wohl von der Feststellung ab, inwieweit die dort isolierten Stämme mit den hier gezüchteten übereinstimmen. Nach meinen Erfahrungen scheint in dieser Bakterienflora keine erhebliche lokale Verschiedenheit aufzutreten.

Da die Untersuchungen des strömenden Blutes von klinisch sicheren Gas-Ödem-Erkrankungen gezeigt haben, daß im Blut dieselben Erregertypen wie im Wundmaterial aufgefunden werden konnten, so scheinen mir die hier niedergelegten Befunde gleichfalls zur Entscheidung der Frage mit beizutragen, welche Bakterien als spezifische Erreger der Gas-Ödem-Erkrankung angesprochen werden müssen.



[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig
(Direktor: Geheimrat Kruse)
und aus dem Laboratorium für angewandte Chemie und Pharmazie der
Universität Leipzig
(Direktor: Geheimrat Paal.)]

# Die Gramsche Bakterienfärbung, ihr Wesen und ihre Bedeutung.

Von

Privatdozent Dr. **Ernst Deußen.**

## Inhaltsangabe.



## Einleitung.

Von den Forschern, welche sich mit den Ursachen der Gramfestigkeit gewisser Mikroorganismen beschäftigt haben, sind vor allem Unna, A. Fischer, Grimme, Brudny und Eisenberg zu nennen. Unna nimmt an, daß bei den gramfesten Bakterien sich eine inniger an das Gewebe haftende chemische Verbindung von Gewebe mit Paranosanilinsalz und Jod bildet als bei den gramfreien. A. Fischer dagegen, welcher zeigen konnte, daß Albumose, durch Kaliumdichromat, Platin-



chlorid u. a. gefällt, um so gramfester wurde, je größer die Granula waren, schloß hieraus, daß die Gramfestigkeit bei den Bakterien auf einem größeren Substanzreichtum beruhen müsse, welcher eine größere Adsorptionskraft bedinge. Danach ist der Ausfall der Gramreaktion auf eine physikalische Beschaffenheit des Bakterienkörpers zurückzuführen. Zu dem gleichen Ergebnisse gelangte Nikitine. R. und W. Albert führen die Gramfärbbarkeit von Dauerhefe auf einen Gehalt an stark färbbaren Eiweißkörpern zurück. Nach Brudny sind die plasmolysierbaren Bakterien gramfrei, die schwach plasmolysierbaren gramfest. Eisenberg erklärt die Verschiedenheit des Ausfalles der Gramreaktion durch die größere oder geringere Durchlässigkeit des Ektoplasmas, welches er sich aus Membran und plasmatischer Rindenschicht zusammengesetzt denkt. Grimme gelang es, beim Bac. tumescens zu zeigen, daß die Bakterienmembran, demnach ein Teil des Eisenbergschen Ektoplasmas, für die Gramfestigkeit nicht verantwortlich zu machen ist. Das Wesen der Gramfärbung wurde durch Untersuchungen von Kruse in ein neues Licht gerückt; er wies experimentell nach, daß die gramfesten Bakterien gegen 1prozentige Kalilauge und gegen die Trypsinverdauung im allgemeinen weit widerstandsfähiger sind als die gramfreien. „Das kann" — so faßt Kruse in seiner „Mikrobiologie" die bisherigen Ergebnisse zusammen — „natürlich nicht erklärt werden durch ihre (d. h. der Bakterien) zu große, sondern höchstens durch ihre zu geringe Durchlässigkeit, die man am einfachsten mit A. Fischer auf eine größere physikalische Dichtigkeit des Zellkörpers der gramfesten Bakterien zurückführen dürfte. Aber auch die Auffassung Unnas hätte hier vorläufig Gleichberechtigung in dem Sinne, daß die größere Widerstandsfähigkeit gegenüber der Grambehandlung sowie den Lösungsmitteln auf chemischem Wege beruhte." Fr. Reichert (1913) geht in seiner Inauguraldissertation näher auf die Untersuchungen derjenigen Forscher ein, welche Beiträge zur Gramfärbung geliefert haben, das für uns Wichtige möge kurz erwähnt werden.

Grimme macht eine besondere Substanz in den Bakterien als Trägerin der Gramfestigkeit verantwortlich; diese Substanz würde durch heiße Salzsäure, 1prozentige Kalilauge, 5prozentige Sodalösung, Pepsin oder Trypsin nicht verändert und wäre relativ schwer in Alkohol löslich. Aronson brachte bei Tuberkelbazillen durch Behandlung derselben mit Trichloräthylen die Gramfestigkeit zum Verschwinden; nach Aronson soll hierbei eine Fettsubstanz herausgelöst werden. Nach der Ansicht von Weiss besteht die Gramsubstanz aus Eiweiß und außerdem noch aus einer wichtigen, aber unbekannten Verbindung; genügendes Beweismaterial wird



von Weiß für diese Ansicht nicht beigebracht. Much und Deycke führen gleichfalls die Gramfestigkeit auf das Vorhandensein einer Eiweißverbindung zurück, nehmen aber an, daß nebenher noch Neutralfette eine große Rolle spielen. Nach Cederncreutz sind es Fett, Stärke, Hemizellulose und Eiweiß, welche den positiven Ausfall der Gramreaktion bedingen. Tamura schied aus Tuberkelbazillen einen höheren Alkohol $C_{24}H_{56}O$, Mykol genannt, ab, welcher sich gram- und säurefest verhielt; er ist der Ansicht, daß die Gramfestigkeit von Bac. tuberc. (Typ. hum.) und von Mycobact. lacticola purug. auf der Anwesenheit des Mykols oder eines Esters desselben im Bakterienkörper beruhe. Nikitine gibt an, daß Fettlösungsmittel die Gramfestigkeit nicht herabsetzen, dagegen Säuren, Alkalien und Ammoniak. Staphylokokken, in Wasser aufgeschwemmt, werden nach den Untersuchungen von Braem mit zunehmendem Alter gramfrei. Paltauf fand, daß gewisse gramfreie Spaltpilze durch Müllersche Flüssigkeit (eine Lösung von Osmiumsäure in Alkohol) gramfest werden. — Was die Reichertschen Untersuchungen selbst betrifft, so sei an dieser Stelle nur erwähnt, daß er Milzbrand- und Diphtheriebazillen bei 37° mit Fettlösungsmitteln behandelte, wobei er fand, daß die genannten Bazillen gramfrei wurden; er zog daraus den Schluß, daß der Verlust der Gramfestigkeit auf der Extraktion von Lipoiden beruhe.

Schließlich sind die Ausführungen Hottingers anzuführen, welcher das Wesen der Gramreaktion nach kolloid-chemischen Gesichtspunkten zu erklären versucht. Experimentelle Angaben fehlen, sie sollen einer späteren Veröffentlichung vorbehalten bleiben. Nach Hottinger sind die Nukleoproteide und die bei der Fixierung gebildeten Nukleine gramfest, hingegen beteiligt sich das Protoplasma nicht an der Gramfärbung. Jedoch der größere oder geringere Gehalt an Nukleoproteiden in den Bakterienleibern ist für die Gramfestigkeit nicht maßgebend, sondern in erster Linie die Größe oder Zahl der sich färbenden Mizellen, welche aus Nukleoproteiden bestehen sollen. Hottingers kolloid-chemische Gesichtspunkte sind in Kürze folgende: Die Gramfestigkeit wird von ihm auf den Dispersitätsgrad zurückgeführt und zwar auf die Verteilung der Nukleoproteide in der Zelle und der optischen Auflösbarkeit dieser gramfesten Teilchen; in den gramfreien Bakterien bildet das gefärbte Nukleoproteid ein Kolloid von so hoher Dispersität, daß die optische Auflösbarkeit der einzelnen Teilchen nicht mehr gelingt, während bei den gramfesten Keimen die gefärbten Nukleoproteidteilchen aus einem mehr oder minder groben Emulsoid besteht. Gramfeste Keime werden nach Hottingers Annahme gramfrei, wenn der Dispersitätsgrad erhöht wird.

---



Aus der Einleitung ersieht man zur Genüge, daß die Ansichten über das Wesen der Gramschen Bakterienfärbung wenig geklärt sind und sich häufig widersprechen. Eingehende Untersuchungen gibt es nur recht wenige, desto häufiger findet man gelegentliche, nicht gar sehr ausführliche Beobachtungen, welche zur Klärung der Gramreaktion wenig oder gar nichts beitragen. Um eine Klärung herbeizuführen, war es erforderlich, nicht nur die Ergebnisse früherer Forscher auf ihren wahren Wert hin zu prüfen, sondern auch selbst möglichst reichhaltiges Tatsachenmaterial zu sammeln. Unter diesem Gesichtspunkte wurde vorliegende Arbeit nach den notwendigen einführenden Vorprüfungen in Angriff genommen. — Zunächst möge das Wichtigste über die von mir benutzte Versuchsanordnung mitgeteilt werden.

## Allgemeines zur Versuchsanordnung.

1. Zu den Versuchen wurde frisch übergeimpftes Bakterienmaterial von Schrägagarkulturen genommen, falls nichts anderes angegeben ist; Hefe gelangte in Form der käuflichen frischen Bäckereipreßhefe zur Anwendung.

2. Bei den ersten Versuchen im Laufe dieser Arbeit wurden die Keime ohne Vorbehandlung, nur durch vorsichtiges Abheben derselben vom Agar verwendet; im weiteren Verlaufe wurde das Material in den vielen Fällen einmal oder mehrere Male mit destilliertem Wasser zentrifugiert, und das vom anhaftenden Wasser möglichst befreite Zentrifugat zu den Bakterienaufschwemmungen benutzt.

3. Das so vorbereitete Bakterienmaterial wurde jedesmal auf sein Gramverhalten geprüft; nur normal gefärbte Proben wurden berücksichtigt.

4. Die Versuche wurden, falls es sich um Autschwemmungen von Bakterienmaterial handelte, in gut gereinigten (Vorbehandlung mittels Chromsäure-Schwefelsäuregemisches), aber nicht sterilisierten Reagenzgläsern aus Jenenser Glas angesetzt, welche durch prall ansitzende Korkstopfen verschlossen wurden. Diejenigen Fälle, wo ein anderer Verschluß gewählt wurde, sind in der Arbeit besonders verzeichnet.

5. Auf die Reinigung der Deckgläser wurde große Sorgfalt angewendet; folgendes Verfahren wurde eingehalten und hat sich bei dem großen Verbrauche an Deckgläsern als praktisch erwiesen.

Die im Handel befindlichen Deckgläser wurden in heiße Chromschwefelsäure, die sich in einem weiten Reagenzglase befand, einzeln hineingegeben; nach Verlauf von ein oder mehreren Stunden wurde das erkaltete Säuregemisch abgegossen, worauf die Deckgläser mehrmals mit Wasser und schließlich mit Alkohol kurz ausgekocht wurden. Der Alkohol wurde ersetzt durch eine Mischung von Alkohol und Äther, in welcher die Deckgläser fertig zum Gebrauch aufbewahrt wurden. Das Abwischen der so geimpften fettfreien Deckgläser geschah in der üblichen Weise mit Mullläppchen, welche des öfteren erneuert wurden. Ein Säubern der bei dieser Manipulation in Betracht kommenden Fingerspitzen mittels Toluols, Xylols oder Alkohols er-



scheint erforderlich zu sein, um Spuren fettartiger Substanz von den Deckgläsern fernzuhalten. Erfolgt übrigens die Behandlung der Deckgläser mit klarem Alkoholäther gründlich, so hat es sich als recht zweckmäßig und angenehm erwiesen, die so gereinigten Deckgläser einzeln in schräger Stellung einfach abtropfen und den Alkoholäther an der Luft verdunsten zu lassen; ein Abwischen mit Mull kann dann in den allermeisten Fällen unterbleiben, was zu einem sparsamen Verbrauche der Gläschen sehr beiträgt.

6. Die in Reagenzgläsern oder ähnlichen Gläsern angesetzten Bakterienaufschwemmungen wurden täglich kräftig umgeschüttelt, doch immer mit der Vorsicht, daß die Flüssigkeit nicht den Stopfen des Gefäßes benetzte; bei den Flußsäureaufschwemmungen in Platintiegeln war ein gelinderes Schütteln des Inhaltes geboten.

7. Die Probeentnahme bei den Aufschwemmungen in Reagenzgläsern wurde mit Ausnahme der HF-haltigen mittels einer Pipette vorgenommen; bei den Flußsäurepräparaten wurde die nötige Menge aus dem Platintiegel abgegossen, und der Rand derselben mit Fließpapier gesäubert.

8. Die bei den Versuchen angewandte Temperatur schwankte, mit Ausnahme der von 36° und anderen Fällen, innerhalb einiger Grade; im Verlaufe dieser Arbeit wurde bei den Bakterienaufschwemmungen in Reagenzgläsern der Unterschied auf etwa 2° eingeschränkt; jedoch immer waren die einzelnen Aufschwemmungen einer jeden Versuchsreihe den gleichen Temperaturschwankungen ausgesetzt, mithin die Versuche unter sich vergleichbar.

9. Die Gramfärbung wurde in der folgenden Weise ausgeführt. Die Karbolgentiana- und Jodjodkaliumlösung (Lugolsche Lösung) beließ man gewöhnlich je 1 Minute auf dem Präparate; nur die Behandlung mit Alkohol wurde öfters geändert, was jedesmal in den Tabellen vermerkt wurde. Mit verdünnter Fuchsinlösung wurde 5 bis 15 Sekunden nachgefärbt. Die angegebenen Zeiten wurden an Hand der Taschenuhr kontrolliert.

Wasserspülung fand nach dem Zusatze von Alkohol und von Fuchsin statt, zum Unterschiede von A. Fischer (S. 287), welcher nach jedesmaligem Hinzufügen der Gentiana- und Jodlösung Wasserspülung anwendete, ein Verfahren, welches die bakteriologische Technik als unzulässig ansieht.

Die Änderung in der Alkoholbehandlung ist in den Tabellen jedesmal vermerkt, folgende Abkürzungen wurden gebraucht:

1. Die übliche Färbungsvorschrift: Gentiana-, Jodjodkaliumlösung und Alkohol zur Differenzierung je 1 Minute = je 1 Minute ohne Tröpfeln;
2. die geänderte Färbungsmethode: Gentiana- und Jodjodkaliumlösung je 1 Minute und $^1/_2$ Minute 30 Tropfen (oder $^1/_4$ Minute 15 Tropfen) Alkohol auf das Deckglas tröpfeln = je 1 Minute, $^1/_2$ (bzw. $^1/_4$) Minute Alkohol tröpfeln.

Weitere Abkürzungen in den Tabellen dieser Arbeit sind hiernach ohne weiteres verständlich. Auf die Darstellung einer möglichst klaren Karbol-Gentianalösung wurde besonders Wert gelegt.

---

Änderungen im Gramschen Verfahren sind vielfach vorgeschlagen worden; so z. B. hat es sich bisweilen als zweckmäßig erwiesen, der



Behandlung mit Alkohol eine mit Salzsäure-Alkohol folgen zu lassen (Gram-Günther) oder nach Nicolle statt des Alkohols eine Mischung von Alkohol mit Azeton zu verwenden. Näher auf diese und andere Abänderungen im Gramschen Färbeverfahren einzugehen, würde zu weit führen. Da sich bald im Anfange meiner Untersuchungen und noch mehr im Verlaufe derselben die Gramsche Reaktion als ein ausgezeichnetes diagnostisches Mittel für gewisse chemische Vorgänge in der Zellsubstanz erwies, so benutzte ich ein Verfahren, welches mir gestattete, in schneller und bequemer Weise Änderungen in der Zusammensetzung der Zellsubstanz zu erkennen. Das folgende Kapitel soll über diesen Punkt Aufschluß geben.

## Über den Einfluß einer geänderten Alkoholbehandlung (sog. Tröpfelmethode) auf den Ausfall der Gramreaktion.

Nach dem üblichen Differenzierungsverfahren mit Alkohol beläßt man denselben 0·1 bis 3 Minuten auf dem Untersuchungspräparate; bekannt ist ja, daß Alkohol, welcher hierbei die Reste der Lugolschen Lösung aufnimmt, ein schlechteres Entfärbungsvermögen besitzt als reiner Alkohol. Der jodjodkaliumhaltige Alkohol hat noch einen anderen Nachteil: wenn man ihn nämlich in der üblichen Weise auf dem Deckglase beläßt, ihn durch Abgießen entfernt und durch Wasserspülung ganz beseitigt, so haften dem mikroskopischen Präparate in größerer oder geringerer Menge gramfeste Klümpchen und Kügelchen an, welche das mikroskopische Bild bei meinen in Betracht kommenden Untersuchungen oft unangenehm und störend beeinflußten. Ein sorgsames Filtrieren der Gentianalösung durch ein doppeltes Filter führte nur selten zu einem befriedigenden Erfolge. Ändert man jedoch die Alkoholbehandlung derart ab, daß man bei schräg gestelltem Deckglase (oder Objektträger) auf den Rand desselben den Alkohol auftröpfelt, so wird die Bildung gramfester Farbstoffklümpchen zum größten Teile vermieden, da diese in reinem Alkohol löslich, wenig löslich in jodjodkaliumhaltigem und unlöslich in Wasser sind. Die Tröpfelmethode wurde in der Weise ausgeführt, daß man während $^1/_2$ Minute 30 Tropfen Alkohol, bei einer Dauer von $^1/_4$ Minute 15 Tropfen auf das schräg gestellte Deckglas gibt, nachdem man mit Gentiana- und Jodlösung je 1 Minute das Präparat gefärbt hatte. Den Alkohol läßt man vom Rande des Deckglases herunterfließen, und wenn man die Vorsicht gebraucht, daß das Herabfließen durch Wenden des Deckglases von 2 oder 3 Kanten desselben geschieht, so wird man ein für die Gramreaktion brauchbares Präparat erhalten. Diese Tröpfelmethode hat außerdem noch



den großen Vorteil, daß sie feinere Unterschiede in der Gramfärbung der Bakterienindividuen hervortreten läßt, wie dies aus dieser Arbeit deutlich hervorgeht.

In welcher Weise die Tröpfelmethode auf den Ausfall der Gramreaktion wirkt, veranschaulicht die folgende Tabelle. Gefärbt wurde mit Karbol-Gentianaviolett und Jodjodkalium je 1 Minute lang. In dieser Tabelle sind nur die Versuche von Deckglaspräparaten mit Hefe berücksichtigt.

Im folgenden bedeutet

$\alpha$: 1 Min. Alkohol in der üblichen Weise auf dem Deckglase belassen;
$\beta$: $^1/_2$ ,, 30—40 Tropfen Alkohol auf das Deckglas getröpfelt;
$\gamma$: 2 ,, etwa 80 Tropfen Alkohol auf das Deckglas getröpfelt;
$\delta$: 3 ,, etwa 180 Tropfen Alkohol auf das Deckglas getröpfelt;
$\varepsilon$: 5 ,, mehr als 180 Tropfen Alkohol auf das Deckglas getröpfelt.

Versuch I.

$\alpha$ = normal, gramfeste Farbstoffpartikelchen;
$\beta$ = normal, klareres Bild, keine Farbstoffpartikelchen;
$\gamma$ = normal, klareres Bild, einige Zellen im Innern rotblau;
$\delta$ = größtenteils normal, jedoch an Zahl mehr blaue Zellen als bei $\gamma$;
$\varepsilon$ = im allgemeinen normal, aber in jedem Hefehäufchen eine mehr oder minder große Zahl rotgefärbter Zellen oder im Beginne der Rotfärbung.

Versuch II.

| | frische käufliche Hefe | nach 7 tägiger Lagerung bei 8—10° |
|---|---|---|
| $\alpha$ = | normal . . . . . . . . . . . | normal, etwa 3 rote Zellen |
| $\beta$ = | normal, klareres Bild . . . . | normal, etwa 1 Dutzend roter Zellen |
| $\delta$ = | in der Haupsache normal, vereinzelt rosa Zellen und Übergänge. | — |

Obige Versuche zeigen die Vorzüge der Tröpfelmethode. Es hat sich als vorteilhaft herausgestellt, die Tropfzahl während $^1/_2$ Minute auf 30 zu beschränken und nach Bedarf auf 15 Tropfen bei einer Dauer von $^1/_4$ Minute herunterzugehen. Analoge Versuche mit Mycoides und Aureus sind S. 273 angegeben.





## Über den Ersatz der 1 prozentigen Jodjodkaliumlösung bei der Gramfärbung durch andere Halogenlösungen nebst Abänderungen im Färbeverfahren.

Über den Einfluß des Zusatzes von Jodjodkalium zur Gentianaviolettlösung bei der Gramfärbung findet man in der Literatur nur wenige Angaben. Nach Gottstein fällt KJ als salzartige Verbindung das Gentianaviolett aus den Gewebselementen; dem Jod des Jodjodkalium wird hierbei keine besondere Wirkung zugeschrieben. A. Fischer (a. a. O.) stimmt dem bei, nur hat er beobachtet, daß die JKJ-Lösung eine stärkere Fällung mit Gentianaviolett hervorbringt als eine 1 prozentige KJ-Lösung allein. Näheres über die Niederschläge von Farbstoff mit KJ und mit JKJ wird von Fischer nicht mitgeteilt. Unna befaßte sich in seiner Schrift „Die Rosaniline und Pararosaniline" eingehender mit diesen Verhältnissen. Aus dieser Schrift möge das, was für die weiter unten angegebenen Versuche von Belang ist, herausgegriffen werden.

Unna untersuchte die Einwirkung von KJ, HJ, JKJ und J in gelöster Form auf die Hydrochloride des Rosanilins und Pararosanilins:

$$C \begin{cases} C_6H_4NH_2 \\ C_6H_4NH_2 \\ C_6H_3CH_3NH \cdot HCl \end{cases} \qquad C \begin{cases} C_6H_4NH_2 \\ C_6H_4NH_2 \\ C_6H_4NH \cdot HCl \end{cases}$$

**Rosanilinsalz** — **Pararosanilinsalz**

Die Niederschläge dieser jodhaltigen Reagenzien mit Rosanilin und Pararosanilin waren dunkelfarbig, teils löslich in Wasser, teils unlöslich, dagegen alle löslich in Alkohol und dann immer die Pararosanilinniederschläge schwerer löslich als die entsprechenden Rosanilinfällungen. Unterschiede in dem Verhalten dieser Niederschläge stellte er fest, erörterte auch die Umsetzungsmöglichkeiten u. a. m. Er ist der Ansicht, daß bei Färbungen das Jod keine feste Verbindung mit der Zellsubstanz der Bakterien eingeht, sondern sich nur mit dem Pararosanilin allein verbindet; die Jodfarbstoffverbindung würde mehr oder weniger stark an das Gewebe gekettet, je nach der chemischen Verwandtschaftskraft des betreffenden Gewebes zu dem Jodfarbstoffe. Diese Ausführungen schließt Unna mit folgenden Worten über die von ihm aufgestellte Theorie der Färbung: „Ich will aber durchaus nicht ... gesagt haben, daß ich den Grund sicher eintretender chromatischer Differenzen jedesmal auf chemische Verschiedenheiten im Objekte zurückzuführen gedächte. Ich habe nur mehrfach im Laufe dieser Untersuchungen betonen zu müssen geglaubt, daß das Gewebe dem Farbstoffe gegenüber in den meisten Fällen die

Rolle eines chemisch verwandten Körpers übernimmt und von demselben dann nicht durch physikalische Kräfte, z. B. durch Diffusion, sondern nur durch eine in Tätigkeit gesetzte neue chemische Anziehung, durch diese aber mit Leichtigkeit getrennt werden kann."

Die hier von Unna ausgesprochene Ansicht zeigt zur Genüge, daß er durchaus nicht zu den unbedingten Anhängern der chemischen Theorie der Färbung zu zählen ist; er weist an mehreren Stellen der genannten Schrift deutlich darauf hin, daß Färbungsunterschiede bei mikroskopischen Schnitten auch auf physikalische Ursachen zurückgeführt werden können.

Bei meinen Versuchen über den Ersatz der 1prozentigen JKJ-Lösung durch andere Halogenlösungen konnte auch ich feststellen, daß JKJ und KJ, beide in 1prozentigen wässerigen Lösungen, im Überschusse zugesetzt, mit Gentianalösung farbige Niederschläge geben. Zum Unterschiede von Unna benutzte ich die für Gramfärbung übliche, mit Karbolwasser versetzte Gentianaviolettlösung. Mit JKJ trat sofort ein brauner Niederschlag ein, welcher unlöslich in Wasser, löslich in 97prozentigem Alkohol war, zu einer blauroten (kirschroten) Flüssigkeit. Nach dem Zusatze von KJ zu Gentianaviolett machte sich zunächst nur eine himmelblaue Trübung bemerkbar, allmählich bildete sich ein Niederschlag, welcher an Menge geringer war als in dem Falle von JKJ. Bemerkenswert ist, daß dieser himmelblaue Niederschlag sich in Wasser zu einer blauroten Flüssigkeit löste.

Zu den im folgenden beschriebenen Versuchen wurden Deckglaspräparate von Aureus, Mycoides und Hefe benutzt und nach Gram entweder in der üblichen Weise oder nach der Tröpfelmethode (Alkoholtröpfelmethode) gefärbt. Neben der üblichen 1 prozentigen JKJ-Lösung wurden folgende Halogenlösungen berücksichtigt: Jodwasser (0·03 Proz.), Bromwasser (1 Proz.) Chlorwasser (0·03 Proz.) und 1proz. wässerige KJ-Lösung. In einem Falle (bei Mycoides) wurde die übliche Reihenfolge der Gramflüssigkeiten derart abgeändert, daß zuerst die JKJ-Lösung auf das Deckglas gegeben wurde und dann Karbolgentianaviolett, Alkohol und Fuchsin.

Über die verschiedene Wirkung der angewandten Halogenlösungen auf Aureus, Mycoides und Hefe ist folgendes zu sagen[1]:

Bei Aureus ist der färberische Erfolg mit Bromwasser und mit Jodwasser so ziemlich der gleiche, durch Jodwasser (nach Einwirkung von 10 Minuten) tritt ein dunklerer blauer Farbenton ein, von dem blauschwarzen des Jodjodkaliums verschieden. Vielleicht ist die geringe Kon-

[1] Die hierzu gehörige Tabelle ist der Raumersparnis wegen weggelassen worden; sie enthält die für die Versuche nötigen Angaben (wie Behandlungsweise mit Alkohol, Zeitangaben u. a. m.).





zentration, in welcher das Jodwasser herzustellen ist, trotz 10 Minuten langer Einwirkung zu schwach, um das Blauschwarz hervorzubringen. Der Ersatz des Jodjodkaliums durch KJ hat den Erfolg, daß das Gentianaviolett fast völlig durch Alkohol entfernt wird; die Kokken sind nicht mehr als gramfest zu bezeichnen.

Bei Mycoides wurden nur die jodhaltigen Lösungen untersucht. Es zeigte sich hier, daß Jodwasser (nach Einwirkung von 10 Minuten und Ersatz durch frisches Reagenz) die gleiche Wirkung hervorzurufen imstande ist wie das Jodjodkalium: die Stäbchen sind gut gramfest gefärbt. Jodkalium dagegen bleibt ohne Einwirkung, genau so wie in dem Falle, wo die übliche Reihenfolge der Gramflüssigkeiten abgeändert wurde in Jodjodkalium—Gentianaviolett—Alkohol—Fuchsin.

Die Versuche mit Hefe und den Halogenlösungen wurden ein wenig eingehender gemacht und auf Chlorwasser ausgedehnt, vorzüglich aus dem Grunde, um die Farbwirkungen bei den Halogenen Chlor, Brom und Jod kennen zu lernen. Maßgebend für unsere Betrachtungen hinsichtlich des Chlorwassers ist der Versuch, bei welchem die Einwirkungszeit des Chlors auf 10 Minuten ausgedehnt wurde. Man sieht, daß Chlor den hellsten Farbenton bei der „Gramreaktion" liefert, Jod den dunkelsten: durch Chlor erhält man einen bläulichen, durch Brom einen tief dunkelblauen und durch Jod einen schwarzblauen Farbenton, welcher von der normalen Färbung durch JKJ nicht zu unterscheiden ist. Von Interesse ist auch das Verhalten der 1prozentigen Jodkaliumlösung auf Hefe an Stelle der üblichen Jodjodkaliumlösung: die Zellen sind dunkelblau, tiefblau bis schwarzblau gefärbt, jedoch nicht durchgängig, ein kleiner Teil verliert bei der Alkoholbehandlung den Dunkelblauton und nimmt einen helleren Blauton an.

Überblickt man die Ergebnisse, die wir bei der Einwirkung der verschiedenen Halogenlösungen auf Aureus, Mycoides und Hefe erhalten haben, so ist das eine gewiß, daß man durch Jodwasser bei geeigneter, d. h. längerer Einwirkung desselben auf Mycoides und Hefe eine durchaus gramfeste Färbung erzielen kann; unsicher ist noch der Erfolg bei Aureus, wo nur ein dunkelblauer Farbton erhalten wurde. Gleichwohl will es mir scheinen, als ob das Jod allein maßgebend für das Zustandekommen der Gramschen Schwarzblaufärbung sei; ob freilich in allen Fällen, dies zu entscheiden, dazu müßte ein reichlicheres Versuchsmaterial vorliegen. Immerhin ist die Vermutung nicht von der Hand zu weisen, daß es Zweckmäßigkeitsgründe gewesen sein mögen, dem Jodjodkalium vor dem Jod den Vorzug zu geben; zu nennen wäre die stärkere Konzentration, in welcher die Jodjodkaliumlösung hergestellt werden kann, ferner die



genauere und bequemere Dosierung dem Jodwasser gegenüber und schließlich auch die etwas bessere Haltbarkeit der Jodjodkaliumlösung.

Betrachtet man weiter die Wirkung von Brom- und Chlorwasser auf den Ausfall der Gramreaktion, so erkennt man trotz des knappen Versuchsmateriales schon recht deutlich, daß an Stelle des Gramschen Schwarzblaues eine Dunkelblaufärbung bei Brom, eine Blaufärbung (Hellblaufärbung?) bei Chlor eintritt. Man darf annehmen, daß die Ursache in der Bildung entsprechend gefärbter Jod-, Brom- und Chlorverbindungen mit dem Gentianaviolett liegt. Ob bei dieser Reaktion das Halogen sich an die Stelle des Säureanteils im Pararosanilin setzt oder eine Nebenreaktion stattfindet, bei welcher das Halogen auch in den Benzolkern in irgendeiner Form eintritt, ist auf rein chemischem Wege zu entscheiden. Auch der Einfluß wäre dann zu untersuchen, den hierbei der Zusatz von Phenol bzw. Anilin zur Gentianaviolettlösung im Vergleiche zu einer reinen Farbstofflösung ausüben kann.

Ändert man bei Mycoides die Reihenfolge der Gramflüssigkeiten ab in Jodjodkalium—Gentianaviolett—Alkohol—Fuchsin, so werden die Stäbchen durchweg gramfrei. Der Grund hierfür ist wohl darin zu suchen, daß es bei dieser Anordnung nicht bis zur Bildung des in Alkohol schwer löslichen jodhaltigen Farbstoffes kommt.

Was die Wirkung der 1prozentigen Jodkaliumlösung (an Stelle der Lugolschen Lösung) auf den Ausfall der Gramreaktion betrifft, so verhalten sich Aureus, Mycoides und Hefe etwas verschieden: Mcyoides erscheint durchaus gramfrei, Aureus blau und Hefe dunkelblau. Wir beobachten demnach in einem Falle (bei Mycoides) kein Haften des Farbstoffes, in den beiden anderen Fällen eine Blaufärbung bei Aureus, eine Dunkelblaufärbung bei Hefe. Warum wird das eine Mal der Farbstoff durch Alkohol herausgelöst, das andere Mal nicht oder nur unbedeutend, während doch in allen drei Fällen bei analoger Einwirkung der Jodkaliumlösung auf den Gentianafarbstoff dieser in der gleichen chemischen Zusammensetzung auf den Zellleib niedergeschlagen werden mußte? Meines Erachtens lassen sich diese Unterschiede sowohl physikalisch (nach A. Fischers Hypothese) als auch chemisch erklären: physikalisch durch Annahme eines größeren Substanzreichtums oder einer dichteren Beschaffenheit der Zelle, chemisch dadurch, daß es wie beim Jodjodkalium auch bei Anwendung von Jodkalium zur Bildung eines J- oder KJ-haltigen Farbstoffes kommt, welcher mit der für die Gramfärbung maßgebenden Zellsubstanz eine in Alkohol mehr oder weniger lösliche Verbindung eingeht.



## Einführende Versuche mit Fettlösungsmitteln und Säuren.

Wie aus der Einleitung zu ersehen ist, wird von einigen Forschern den Fettlösungsmitteln eine Bedeutung für den Ausfall der Gramreaktion beigemessen; durch Behandlung mit solchen organischen Flüssigkeiten werden nach Beobachtungen dieser Forscher „Lipoid"-verbindungen, welche die Gramfestigkeit mancher Bakterien bedingen sollen, herausgelöst. Auch von mir wurden derartige und andere Versuche angestellt, die, obwohl nur Vorprüfungen, doch für den weiteren Verlauf dieser Arbeit wertvoll waren. Diese Versuche mögen nur in aller Kürze mitgeteilt werden.

Es wurden hierfür Deckglaspräparate und Aufschwemmungen von Bakterien (Aureus, Mycoides und in 2 Fällen Hefe) benutzt; die Deckglaspräparate waren bei Zimmertemperatur angetrocknet worden; die Bakterien in den wässerigen oder alkoholischen Flüssigkeiten gut zu verteilen, bot keine Schwierigkeit. Um die Schwierigkeit des Verteilens in Äther, Ligroin und ähnlichen Lösungsmitteln zu beheben, wurde das Bakterienmaterial zuerst mit wenig Alkohol gut verrührt, und darauf das betreffende Lösungsmittel, wie Äther, Ligroin usw. hinzugegeben. An Untersuchungsflüssigkeiten wurden außer den üblichen organischen Lösungsmitteln Chloroform, Äther und Ligroin noch verschiedene Säuren (Salz-, Salpeter-, Schwefel-, Essig-, Milchsäure und Flußsäure) und die beiden bekannten Reagenzien Chloralhydratlösung (67prozent. in Wasser) und Schweizers Reagens benützt. Bei der Probeentnahme wurde von diesen Aufschwemmungen eine Platinöse voll auf Deckgläser verteilt, welche im Vakuumexsikkator bei Zimmertemperatur getrocknet wurde. Die HF-haltigen Proben brachte man auf Deckgläser, welche einen Tropfen Ammoniak enthielten, und trocknete sie in der gleichen Weise. Diese und ähnliche Präparate befreite man durch Abspülen mit Wasser vom anhaftenden Reagenz; bei Schweizers Reagenz wurde dem Spülwasser etwas Ammoniak hinzugefügt; bei den HF-Aufschwemmungen kamen Platintiegel zur Anwendung.

Aus den einführenden Versuchen ergab sich nun folgendes. Chloroform, Äther, Ligroin, 67prozentige wässerige Chloralhydratlösung und Schweizers Reagenz beeinflussen die Gramfestigkeit von Aureus und Mycoides bei einer Dauer von mehreren Tagen und einer Temperatur von 20 bis 25° nicht, selbst wenn man, wie es bei den Versuchen mit Äther, Chloroform und Ligroin geschah, diese auf 2 bis 3 Wochen ausdehnt; die gleiche Beobachtung macht man mit Schweizers Reagenz. Der Versuch mit diesem beschränkte sich bei Mycoides nur auf eine Dauer von $1^1/_2$ Tagen. Nach Untersuchungen von R. Mauch sind in 60 bis 80prozentigen wässerigen Chloralhydratlösungen löslich: Alkaloide und deren Salze, Glykoside, Bitterstoffe, viele Harze, Gummiharze, sauerstoffhaltige ätherische Öle, viele organische Farbstoffe (auch Indigotin), Gerbsäuren, Zuckerarten, Dextrine, nach vorangegangener Quellung Stärke,



Eiweiß (Hühnereiweiß?), ferner Gelatine und Keratin, wenig löslich fette Öle und feste Fette, dagegen unlöslich Zellulose und Seidenstoffe. Daß Verbindungen wie Glykoside, Harze, Fette, Keratin, falls sie Bestandteile des Bakterienleibes sind und für den Ausfall der Gramreaktion maßgebend sind, von wässeriger Chloralhydratlösung bei den oben angegebenen Versuchsbedingungen ausgezogen werden können, ist wohl anzunehmen. Auf die komplizierten Eiweißverbindungen wie Nuklein u. a. hat Mauch seine Versuche nicht ausgedehnt. Die von mir gemachten Beobachtungen sprechen nicht dafür, daß die komplizierter zusammengesetzten Nukleinverbindungen, wenn sie im Bakterienleibe enthalten sind, in konzentrierter wässeriger Chloralhydratlösung löslich sind. Nicht bloß Chloralhydratlösung blieb ohne Einfluß auf die Gramfestigkeit von Aureus und Mycoides, sondern auch Schweizers Reagenz, das Lösungsmittel für Zellulose. Demnach wird Zellulose als solche für den Ausfall der Gramreaktion nicht in Betracht kommen. Ein 3 Minuten langes Erhitzen von Aureus mit Ligroin (Siedetemperatur 90 bis 100°) blieb ohne Einfluß auf den Ausfall der Gramreaktion. Anders jedoch verhielten sich Aureus, Mycoides (und Hefe) bei einigen Versuchen mit Säuren. Ohne Erfolg freilich waren die Versuche von Aureus und Mycoides mit Salpetersäure (Aureus), Flußsäure (Mycoides, 25 prozent. Säure), Essigsäure und 10 prozent. Milchsäure (Aureus). Die Einwirkungsdauer betrug 2 bis 3 Tage bei Zimmertemperatur (20 bis 25°), bei Salpetersäure von 25 Prozent nur 6 Stunden (Aureus). Keine Änderung konnte man bei einer eintägigen Einwirkung von Eisessig auf Aureus bemerken; kurzes Erhitzen von Aureus und Mycoides mit 6- bzw. 3prozentiger Essigsäure auf 90 bis 100° brachte keine Änderung hervor. Kamen dagegen Salzsäure (6 bis 9 Prozent) oder Schwefelsäure von 10 Prozent zur Anwendung, und wurden hierbei die Versuche auf mehrere Tage bei Zimmertemperatur von 20 bis 25° ausgdehnt, so trat eine deutliche Abnahme der Gramfestigkeit bei Aureus, Mycoides und Hefe ein: durch Salzsäure wurden die Bakterien nach 5 Tagen zum großen Teile oder auch ganz gramfrei; 10 Prozent Schwefelsäure wirkte langsamer.

Solche Versuche mit Säuren waren im beschränkten Umfang mit ähnlichen Erfolgen schon von anderen Forschern ausgeführt worden; so gibt z. B. Grimme (s. Einleitung) an, daß gramfeste Bakterien durch heiße Salzsäure nicht verändert würden, Nikitine dagegen fand, daß die Gramfestigkeit durch Säuren, Alkalien und Ammoniak herabgesetzt würde. Nach meinen Vorprüfungen mit Säuren des verschiedensten Dissoziationsgrades (Essigsäure → Salzsäure!) übten diese zum Teil einen schädigenden Einfluß auf die Gramfestigkeit aus; ebenfalls schien die Dauer der Einwirkung (vgl. das Verhalten der stark dissoziierten Salpetersäure!) und

die Höhe der Temperatur bei den Versuchen eine Rolle zu spielen. Alles dies machte es wünschenswert, die Wirkungsweise von Säuren des verschiedensten Dissoziationsgrades möglichst umfassend zu prüfen und anschließend an die H-Ionenwirkung die der OH-Ionen zu untersuchen. Diesen Untersuchungen sind nun die folgenden Kapitel mit ihrem umfangreichen experimentellen Materiale gewidmet. Die hierzu gehörigen Tabellen mußten wir auch im weiteren Verlaufe dieser Abhandlung der Raumersparnis wegen weglassen.

## Einwirkung von Säuren und Alkalien auf Kleinwesen.

### I. Einwirkung von Säuren auf Aureus, Mycoides und Hefe unter verschiedenen Bedingungen.

Für diese Art von Versuchen war die Aufschwemmungsmethode die passendste. Von Säuren wurden folgende gewählt: Salz-, Salpeter-, Schwefel-, Flußsäure, Ameisen-, Essig-, Propion-, n-Butter- und i-Milchsäure; die Konzentration dieser Säuren war $^{n}/_{2}$ bis 6n und wurde durch Titration bestimmt, ausgenommen die der Milchsäure, wo der Gehalt durch Verdünnen des offiziellen 90prozent. Präparates mit destilliertem Wasser hergestellt wurde; der Anteil an Milchsäureanhydrid blieb hierbei unberücksichtigt. Die Flußsäure war Kahlbaumsches reines Präparat. Nach früheren Untersuchungen des Verfassers enthält diese zwar Spuren von Schwefelsäure und Kieselflußsäure; die geringen Verunreinigungen sind jedoch für die Beurteilung der erhaltenen Ergebnisse ohne den geringsten Belang. Die Aufschwemmungen mit Flußsäure wurden in Platintiegeln vorgenommen, welche durch gut passende Kork- oder Gummistopfen verschlossen wurden. Bei den Aufschwemmungen von Mycoides mit 2n-Flußsäure und -Ameisensäure verwendeten wir zwei Platintiegel und zwar aus dem Grunde, um die Versuchsanordnung möglichst gleichartig zu gestalten. Es mag noch erwähnt werden, daß die zu bestimmten Zeiten entnommenen Proben in den meisten Fällen entweder nach Neutralisierung mittels Jodlösung oder mit Wasser allein mehrmals zentrifugiert wurden. Alles übrige findet man in der folgenden Übersicht angegeben.

#### Aureus (Staphyloc. pyog. aureus).

1. Versuchsreihe mit $^{n}/_{2}$-Säuren bei 20 bis 25°.

Bei dieser Säurekonzentration und bei Anwendung der Färbemethode ohne Tröpfeln (je 1 Minute ohne Tröpfeln) erleidet die Gramfestigkeit nach 5 Tagen keine Einbuße, nach etwa 34 Tagen macht sich ein Einfluß bemerkbar, aber nur bei den starken und mittelstarken Säuren, zu denen Salz-, Salpeter-, Schwefel- und Oxalsäure zu rechnen sind. Bei Ameisen-, Milch-, Essig-, Buttersäure und wahrscheinlich auch bei Propionsäure läßt sich keine Einwirkung erkennen. Bei Salz-, Salpeter-, Schwefel- und Oxalsäure treten Gradunterschiede in der Umwandlung des Aureus schon deutlich



hervor: die Umwandlung durch Salzsäure und durch Salpetersäure ist nach 34 Tagen weiter vorgeschritten als durch Schwefelsäure und durch Oxalsäure. Obwohl die Genauigkeit dieser Versuche nur eine angenäherte ist, so erkennt man, daß die Säuren sich nach ihrer elektrolytischen Dissoziation einreihen; Salzsäure und Salpetersäure sind stärker dissoziiert als Schwefelsäure und Oxalsäure und diese letzteren wiederum stärker als Ameisensäure, Milchsäure bis herab zur schwächsten Säure der Normal-Buttersäure. Nach etwa 49tägiger Einwirkung von $^n/_2$-Salzsäure bei 20 bis 25° ist Aureus gramfrei geworden.

2. Versuchsreihe mit 4n-Säuren bei etwa 20°.

**(Färbemethode: je 1 Minute ohne Tröpfeln),**

Die Wirkungsweise der 4n-Säuren Salz-, Schwefel- und Ameisensäure verhält sich den in der 1. Versuchsreihe angeführten Ergebnissen ganz entsprechend: die Säuren ordnen sich auch hier nach ihrem Dissoziationsgrade. Salzsäure wirkt am kräftigsten, schwächer bereits Schwefelsäure und ohne Einfluß ist Ameisensäure. In Anbetracht der größeren Konzentration dieser Säuren im Vergleich zu der bei der 1. Versuchsreihe mit $^1/_2$facher Normalität geht die Umwandlung rascher vor sich; nach 3 Tagen schon sind bei der Aufschwemmung mit 4n-Salzsäure — scheinbar! — keine normal gefärbten Kokken mehr zu sehen, während eine 5tägige Einwirkung der $^n/_2$-Salzsäure der Färbbarkeit nach Gram keinen Abbruch tut.

Bei der 2. Versuchsreihe traten experimentelle Schwierigkeiten auf, welche erst im Verlaufe dieser Arbeit überwunden wurden. Es zeigte sich nämlich, daß nach 6tägiger Einwirkung der 4n-Salzsäure auf Aureus keine Sedimentierung der schwach opalisierenden Flüssigkeit trotz Alkoholzusatzes und Zentrifugierens erfolgte. Die Flüssigkeit erschien fast klar und gab bei einer Prüfung mit Silbernitrat deutlich die Chlorreaktion. Um diese Schwierigkeiten zu beheben, wurde die Salzsäure bei einem neuen Versuche (Temperatur: 25°) durch verdünnte Sodalösung bis zur schwach sauren Reaktion abgestumpft, worauf unter Zusatz von destilliertem Wasser 2 bis 3mal zentrifugiert wurde. Der Erfolg war, daß Sedimentierung nach dem Zentrifugieren eintrat; die Kokken schienen gramfrei zu sein. Zur Kontrolle wurde von der gleichen, aber nicht vorbehandelten Untersuchungsflüssigkeit mit der Platinöse eine Probe auf das Deckglas gebracht, in Vakuum bei 25° verdunstet und ohne vorherige Wasserspülung nach Gram gefärbt. Der Erfolg war nun, daß die Kokken größtenteils normal gefärbt waren, eingestreut lagen undeutlich rot gefärbte Kokken. Der Betrag an veränderten und unveränderten Kokken ließ sich auch schätzungsweise nicht angeben. Ich glaube aber, daß die Umwandlung tatsächlich größer



war, als es das mikroskopische Bild erkennen ließ. Auf jeden Fall wird Aureus durch 4n-Salzsäure bei 25° nach 4 Tagen zu einem guten Teil gramfrei.

3. Versuchsreihe mit 2n-Säuren bei 36°: Salzsäure, Flußsäure.

(Färbemethode: je 1 Minute und $^1/_2$ Minute ohne Tröpfeln).

Bei der 3. Versuchsreihe wurden alle Bedingungen eingehalten, um die eben geschilderten experimentellen Schwierigkeiten nach Möglichkeit zu beheben. Zunächst ist die früher erwähnte Tröpfelmethode anzuführen, sie wirkt trotz kürzerer Einwirkungszeit energischer als die übliche Methode, den Alkohol 1 Minute auf dem Deckglase zu belassen. Außerdem wurden die entnommenen Proben mit Sodalösung gegen Lackmus als Indikator neutralisiert und bei 3000 bis 3500 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert. Die Flußsäureproben wurden in der gleichen Weise behandelt, nur mit dem Unterschiede, daß das Neutralisieren in einer Platinschale oder ebensogut in einem mit Wachsparaffin überzogenen Becherglase vorgenommen wurde (Deußen). Da das entstandene Natriumfluorid unter diesen Versuchsbedingungen das Glasmaterial des Zentrifugenröhrchens nicht angreift, so konnte das Zentrifugieren unbedenklich in den üblichen gläsernen Röhrchen geschehen.

Was die Ergebnisse der 3. Versuchsreihe mit Salzsäure und Flußsäure anlangt, so erkennt man auch hier, wo 2n-Säuren in Arbeit genommen wurden, daß die stärkere Salzsäure wesentlich schneller die Umwandlung des Aureus herbeiführt als die schwächere Flußsäure, deren Dissoziation von der Größenordnung der Phosphorsäure, Arsensäure und Monochloressigsäure (Ostwald, Deußen) ist: Phosphorsäure = 6·00, Flußsäure = 5·7, Monochloressigsäure = 4·7. Da die Versuche bei 36° vorgenommen wurden, geht die Umwandlung der Kokken durch die Salzsäure ziemlich rasch vor sich; sie ballen sich hierbei zum Teil zu formlosen Haufen zusammen. Von Wichtigkeit ist auch, daß die Flußsäure, welche an Stärke etwa in der Mitte zwischen Oxalsäure und Ameisensäure steht, nach 7 Tagen eine teilweise Umwandlung der Kokken bewirkt; nach 13tägiger Einwirkung sind sie erst gramfrei geworden. Mithin sind auch schwach dissoziierte Säuren befähigt, Gramfreiheit herbeizuführen, falls nur die Versuchstemperatur erhöht wird.

4. Versuchsreihe mit 2n-Milchsäure (18 Prozent) bei 36 und 23°.

Färbemethode: je 1 Minute und $^1/_2$ Minute 25 Tropfen tröpfeln; Proben nach Neutralisation mit Soda bei 3000 U zentrifugiert.

Die Einwirkung dieser 2n-Säure bei einer Temperatur von 36° ist recht gering; erst nach etwa 19 Tagen wird ein erheblicher Teil der Kokken



gramschwächer. Bei der Versuchstemperatur von 23° ist ein Einfluß selbst nach einer Dauer von 22 Tagen nicht zu bemerken. Vgl. hierzu die Versuche von Milchsäure mit Hefe und Bac. bulgar. (S. 253 u. 281)!

### Mycoides.

1. Versuchsreihe mit $^{n}/_{2}$-Säuren bei 18 bis 20°: Salzsäure, Essigsäure. n-Buttersäure.

Färbemethode: je 1 Min. ohne Tröpfeln.

Das Verhalten des Mycoides gleicht dem von Aureus bei $^{n}/_{2}$-Säuren (s. 1. Versuchsreihe).

$^{n}/_{2}$-Säuren (Salz-, Essig- und n-Buttersäure) lassen die Gramfestigkeit bei 18 bis 20° und einer Dauer von 9 Tagen unberührt; auch nach 45 Tagen ist eine merkliche Abnahme nur bei der Salzsäure zu beobachten, bei Essig- und Buttersäure ist sie unbedeutend; ein Toluolzusatz von 1 bis 2 Tropfen zur Buttersäure-Aufschwemmung ändert nichts an dem Befunde.

2. Versuchsreihe mit 4n-Säuren bei 18 bis 20°: Salzsäure, Schwefelsäure, Ameisensäure.

Färbemethode: wie bei 1.

Die stärker konzentrierten Säuren liefern das gleiche Bild. Daß $^{n}/_{2}$-Salzsäure bei 20 bis 25° Aureus nach 49 Tagen (vgl. 1. Versuchsreihe bei Aureus) gramfrei macht, während die gleichkonzentrierte Säure bei 18 bis 20° Mycoides nach 45 Tagen (s. 1. Versuchsreihe bei Mycoides) nur unbedeutend beeinflußt, ist wohl auf den Temperaturunterschied bei den beiden Versuchsreihen zurückzuführen. Eingehendere Vergleichsversuche sind hierzu erforderlich.

3. Versuchsreihe.

(je 1 Min. und $^{1}/_{2}$ Min. tröpfeln).

a) 3n- und 6n-Flußsäure bei 23 bis 24°.

b) 2n-Flußsäure und -Ameisensäure bei 25 bis 27°.

c) 6n-Flußsäure bei 36°.

Zur Technik dieser Versuche ist zu bemerken, daß die Proben, auch die der Ameisensäure, vor dem Zentrifugieren mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht wurden, mit Ausnahme des Versuches mit der 6n-Flußsäure bei 36°, wo die Probe ohne weitere Vorbehandlung auf dem Deckglase mit Ammoniak zusammengebracht und in der bekannten Weise weiter verarbeitet wurde. Eine Wirkung der 3n-Flußsäure bei 23 bis 24° auf Mycoides ist nach 4 Tagen nicht zu beobachten, die der 6n-Flußsäure ist in der gleichen Zeit nur schwach, wesentlich stärker wird sie erst nach



Verlauf von etwa 7 Tagen. Bei den Versuchen mit 2n-Flußsäure macht sich die Erhöhung der Temperatur von 23 bis 24° auf 25 bis 27° ziemlich deutlich bemerkbar. Trotzdem die Konzentration hier schwächer ist als bei den eben genannten Versuchen unter a, hat die geringe Temperaturerhöhung von 2 Grad eine um weniges stärkere Umwandlung der Stäbchen nach einer Versuchszeit von 3 bzw. 4 Tagen herbeigeführt. Von Interesse ist das Verhalten der Ameisensäure gegenüber der 2n-Flußsäure bei den gleichen Versuchsbedingungen: die Ameisensäure wirkt schwächer. Dies entspricht ihrer Eigenschaft als der schwächer dissoziierten Säure. Der Versuch mit 6n-Flußsäure bei 36° besagt, daß bei Temperaturerhöhung auch eine schwach dissoziierte Säure Mycoides nach etwa 6 Tagen gramfrei macht.

## Hefe.

(Färbemethode: je 1 Min. und $^1/_2$ Min. tröpfeln.)

1. Versuchsreihe mit 4n-Säuren bei 17 bis 18°: Salzsäure, Schwefelsäure, Ameisensäure.

Auch bei Hefe zeigte es sich, daß die Säuren hinsichtlich ihrer Wirkungsweise sich nach dem Dissoziationsgrade einordnen. Die Umwandlung der Hefe wurde annähernd quantitativ verfolgt, da sie sich verhältnismäßig gut zu solchen messenden Bestimmungen eignet, wie das aus dem folgenden Kapitel hervorgeht.

2. Versuchsreihe:

a) zentrifugiertes Material mit 6n-Flußsäure bei 36°;

b) Reinzuchthefe der Riebeckschen Brauerei (sog. K-Hefe) mit 4n-Salzsäure bei etwa 17°.

Wie Aureus und Mycoides wurde auch Hefe durch die schwache Flußsäure bei erhöhter Temperatur gramfrei; nach etwa 6 Tagen trat dieser Punkt ein. Bemerkenswert ist hier noch, daß nicht wie bei späteren Versuchen mit Salzsäure eine Körnerfärbung zu beobachten war.

Da bei Aureus und Mycoides jedesmal frisch übergeimpftes Material benutzt wurde, von Hefe nur die käufliche Preßhefe, so impfte ich Riebecksche K-Hefe auf etwas feucht gehaltener Petrischale mit Agar bei etwa 20° über; nach 3 Tagen hatte sich genügend Hefe gebildet. Die Kontrollprobe, nach Gram gefärbt, wies nur einige wenige farblose Zellen auf, eine Beobachtung, welche nicht nur bei Hefe, sondern auch bei Mycoides bisweilen gemacht wurde. Der Versuch mit Reinzuchthefe beweist, daß auch diese in ihrem Verhalten gegen 4n-Salzsäure bei 17° der käuflichen, frischen Preßhefe glich.



3. Versuchsreihe mit i-Milchsäure.

(Färbemethode: je 1 Min. und $^1/_2$ Min. 25 Tr. tröpfeln.)

2n-Säure bei $36^1/_2{}^0$ und $^n/_1$-Säure bei 23 und $36^1/_2{}^0$.

Der Einfluß der 2n- und $^n/_1$-Milchsäure auf den Ausfall der Gramreaktion war auffallend gering und verschwindend gering bei den Versuchen mit $^n/_1$-Säure bei der Temperatur 23°; bei diesen letzteren Versuchen ließ sich die Hefe noch nach einer Einwirkungszeit der Säure von 24 Tagen zum allergrößten Teile sehr gut nach Gram färben. Bei der erhöhten Temperatur von $36^1/_2{}^0$ vollzog sich die Umwandlung etwas schneller: durch die 2n-Säure wurden nach 12 Tagen 25 Prozent Zellen umgewandelt (gramfrei und Übergänge), nach 21 Tagen 30 Prozent, durch die $^n/_1$-Säure nach 24 Tagen wurden etwa 40 Prozent veränderte gezählt. (Vgl. hierzu die Versuche mit Bac. bulgaricus mit Milchsäure S. 281).

Messende Versuche über die Einwirkung von Säuren auf Hefe:

a) $^n/_2$-Säuren von verschiedenem Dissoziationsgrade;

b) 3 bis 4n-Salzsäure bei Anwendung verschieden großer Hefemengen.

(Färbemethode bei allen: je 1 Min. und $^1/_2$ Min. tröpfeln.)

a) Um die Umwandlung gramfester Hefe in gramfreie durch Säuren messend zu verfolgen, wurde im wesentlichen die gleiche Versuchsanordnung wie die im vorigen Kapitel beschriebene benutzt. Nach den früheren Versuchen schienen Temperaturen von 22 bis 23° und eine Konzentration der Säuren von $^1/_2$-facher Normalität am geeignetsten zu sein. In den Versuchen wurde ein etwa linsengroßes Stück frischer Preßhefe mit etwa 4 ccm der betreffenden Säure in einem Reagenzglase kräftig angeschüttelt, dieses mit einem Korkstopfen gut verschlossen in einen Thermostaten gestellt, dessen Temperatur von 23 bis 25° bzw. 22 bis 24° schwankte. Jeden Tag wurde der Inhalt des Reagenzglases gut durchgeschüttelt, und zu bestimmten Zeiten mittels Pipette eine Probe entnommen, welche wir dreimal mit destilliertem Wasser zentrifugierteen. Eine Durchschnittsprobe des Zentrifugats verteilten wir auf 2 Deckgläser möglichst gleichmäßig, trockneten ohne Anwendung von Wärme an und färbten unter Anwendung der Tröpfelmethode nach Gram. An 2 bis 3 verschiedenen Stellen des mikroskopischen Präparates ermittelten wir die Zahl der unveränderten und veränderten Hefezellen; der Durchschnitt aus 2 Deckglaspräparaten wurde als maßgebend angesehen. Von Säuren kamen in Betracht: Salz-, Schwefel-, Oxal- und Ameisensäure. Die Stärke dieser Säuren beträgt, wenn man die der Salzsäure nach Ostwald gleich 100 setzt, für:

| | |
|---|---|
| Schwefelsäure . . . . . . | 73—74 |
| Oxalsäure . . . . . . . . | 18 |
| Ameisensäure . . . . . . | 1·5 |

Die einzelnen Versuche unterscheiden sich in ihrer Anordnung darin, daß die käufliche Preßhefe das eine Mal ($\alpha$-Versuche), ohne vorher erhitzt zu



werden, verwendet wurde, das andere Mal ($\beta$-Versuche), aufgeschwemmt in destilliertem Wasser, 5 Minuten im Wasserbade auf 97 bis 98° erhitzt und zentrifugiert wurde. In der 2. Versuchsreihe kam zum Unterschiede von der ersten überhaupt nur vorher zentrifugierte käufliche Preßhefe zur Anwendung.

b) Wichtig schien die Beantwortung der Frage, wie die Umwandlung bei stark voneinander abweichenden Hefemengen unter dem Einflusse von Salzsäure vor sich gehen würde. Die Mengenverhältnisse bei diesen Versuchen waren folgende. Von der frischen Hefe wurden bei den Parallelversuchen in dem einen Falle etwa 0·01 g, im anderen 0·1 g angewendet. Die benutzten Temperaturen waren 36°, 22 bis 24° und 8 bis 10°; diejenigen Hefeaufschwemmungen, welche bei 36° und bei 22 bis 24° gehalten wurden, schüttelten wir am Tage zweimal gut durch. Im übrigen schließt sich die Versuchsanordnung den oben und früher gemachten Angaben an. Die mikroskopische Durchmusterung der unter a) und b) erhaltenen Deckglaspräparate geschah bei elektrischem Lichte, diejenigen Zellen, welche eine deutlich erkennbare Änderung in der Gramfärbung aufwiesen, wurden als verändert angesehen.

Folgendes möchte ich der Besprechung der hierbei gewonnenen Ergebnisse vorausschicken. Die Untersuchungen fallen, wie ersichtlich, in den Bereich der chemischen Dynamik. Ich bin mir wohl bewußt, daß die Genauigkeit der mitgeteilten Bestimmungen nur eine angenäherte sein kann, da Fehlerquellen bei der geschilderten Versuchsanordnung und bei dem eigenartigen Versuchsmateriale unvermeidlich sind. Von Fehlerquellen kämen hierbei in Betracht: die ungenügende Konstanz der Versuchstemperatur (abgesehen von der bei 36°), eine Fehlerquelle, welche nicht so sehr ins Gewicht fallen dürfte, weil die einzelnen Hefeaufschwemmungen bei den entsprechenden Versuchen den gleichen Temperaturschwankungen ausgesetzt waren; erheblicher wird der Fehler sein, welcher durch die Unlöslichkeit der Hefe in Säure bedingt ist. Wir haben hier eine inhomogene Flüssigkeit; eine gleichmäßige Verteilung der Hefezellen in dieser Flüssigkeit ließe sich durch häufiges Schütteln des Reaktionsgefäßes oder noch besser durch eine Schüttelvorrichtung für künftige Untersuchungen erreichen. Eine weitere, doch weniger erhebliche Fehlerquelle liegt in der Schwierigkeit, die Zahl der veränderten Zellen in mikroskopischen Präparate sicher festzustellen.

a) $^n/_2$-Säuren: Salzsäure, Schwefelsäure, Oxalsäure, Ameisensäure.

$\alpha$ = Versuche mit Hefe ohne Vorbehandlung, $\beta$ = nach Vorbehandlung (erhitzt und zentrifugiert).

1. Versuchsreihe bei 23 bis 25°.
2. ,, ,, 22 ,, 24°.



Es konnte hier mit Sicherheit nachgewiesen werden, daß eine Proportionalität in der Zahl der veränderten Hefezellen zu dem Dissoziationsgrade der angewandten Säuren besteht: je geringer der Dissoziationsgrad der Säure, desto geringer die Zahl der umgewandelten Zellen. Recht anschaulich zeigen dies die $\alpha$-Versuche der 1. Reihe. Bei den $\beta$-Versuchen fällt es auf, daß die Umwandlung der Zellen in der ersten Zeit der Einwirkung der Säuren langsamer verläuft als bei den entsprechenden $\alpha$-Proben: Schwefelsäure bewirkt nach einem Verlaufe von 7 Tagen noch keine Veränderung, während nicht erhitzte Hefe nach 6 Tagen bereits 30 Prozent veränderte Zellen aufweist; das gleiche Verhalten zeigt Oxalsäure, nur ist bei ihr, als der schwächeren Säure, die Reaktion verlangsamt: erhitzte Hefe zeigt nach 20 Tagen keine Andeutung von Umwandlung; nicht vorbehandelte ist schon nach 14 Tagen um 10 Prozent umgewandelt. Bei Ameisensäure sind Unterschiede nicht erkennbar, da der Prozeß bei der obwaltenden Temperatur zu langsam vor sich geht; immerhin zeigten die Versuche der $\alpha$- und $\beta$-Reihe eine willkommene Übereinstimmung in den Werten. Hinsichtlich des Verhaltens der Salz-, Schwefel- und Oxalsäure bei der $\alpha$- und $\beta$-Reihe ist unverkennbar, daß der Beginn der Umwandlung bei dem nicht vorbehandelten Hefenmaterial schneller einsetzt als beim vorbehandelten. Daß nicht nur die Erhitzung der Hefe, sondern auch die der Erhitzung vorausgehende Operation des Zentrifugierens des Hefematerials (vgl. die 2. Versuchsreihe) einen hemmenden Einfluß auf die Umwandlung ausüben, läßt die 2. Versuchsreihe erkennen. Wie groß die verzögernde Wirkung der um etwa 1° niedrigeren Reaktionstemperatur von 22 bis 24° anzusetzen ist, ist unsicher, dürfte aber am Gesamtbilde nichts ändern. Auffallend ist noch, daß die nicht erhitzte Hefeprobe der 2. Versuchsreihe ($\alpha$) nach 13 Tagen einer teilweisen Auflösung (kolloidalen) der Zellen durch Salzsäure entgegengeht; es müssen wohl in der käuflichen Preßhefe noch Stoffe enthalten sein, welche diese Auflösungserscheinung hintanhalten, jedoch durch Zentrifugieren mit destilliertem Wasser entfernt werden. Der Grund dafür, daß vorher erhitztes Material im Anfange der Säurewirkung langsamer umgewandelt wird als nicht erhitztes, ist vielleicht darin zu suchen, daß der Zellenleib (oder die Zellinhaltstoffe?) durch die kurz andauernde Erhitzung auf etwa 97° weniger durchlässig für Säuren geworden ist; ob durch eine Art von Koagulation, wie etwa nach Ansicht von Kruse und seinen Mitarbeitern, oder durch andere Prozesse, läßt sich nach vorliegendem Materiale noch nicht entscheiden. Bemerkenswert ist, daß solches erhitztes Material, wie die 1. Versuchsreihe lehrt, nach einer bestimmten Zeit der Säureeinwirkung eine Beschleunigung der

Umwandlung im Vergleich zur nicht erhitzten Probe erfährt: bei Schwefelsäure und Oxalsäure, bei denen man diesen Vorgang gut verfolgen kann, tritt die Beschleunigung nach etwa 20 bzw. 40 Tagen ein.

b) 3n-Salzsäure bei Temperaturen von 36°, 22 bis 24° und 8 bis 10° mit Hefemengen von 0·01 g und 0·1 g bei einer Säuremenge von 3 bis 4 ccm für jeden Versuch.

Diese Versuche zeigten deutlich und einwandsfrei, daß die Geschwindigkeit der Umwandlung der gramfesten Hefe in gramfreie eine Funktion der Temperatur ist. Das andere Ziel, durch Änderung der Hefemengen die Gültigkeit des Massenwirkungsgesetzes bei diesem ohne Zweifel chemischen Prozesse zu prüfen, hat sich, wie es scheint, aus zwei Gründen nicht verwirklichen lassen. Zwar zeigen die Versuche mit den Hefemengen von 0·01 und 0·1 g ziemlich deutliche Unterschiede in dem Verhalten des Hefematerials; scheinbar tritt bei größeren Hefemengen eine Verlangsamung der Umwandlung ein; doch zwei Versuchsfehler können hieran Schuld haben: 1. bei größeren Hefemengen bildet sich ein dickerer Bodensatz, welcher dem Angriffe durch die Salzsäure weniger ausgiebig ausgesetzt ist als bei ganz geringen Hefemengen, wo der Bodensatz eine bessere und ungehindertere Angriffsfläche der Säure darbietet; 2. diese Fehlerquelle könnte auf einer Konzentrationsänderung beruhen, welche die benutzte Säure bei größeren Mengen Hefe durch deren höheren Wassergehalt erleidet. Gelegentlich eines anderen, gleichartigen Versuches nämlich wurde nach 9tägiger Einwirkung die Salzsäure (4n) von der gut abgesetzten Hefe ziemlich klar abpipettiert; die Titration mit 2n-KOH und Phenolphthalein als Indikator ergab eine schwache Abnahme des Titers: aus der 4n-Salzsäure war eine 3·97 n geworden. Die geringe Konzentrationsverminderung wird kaum zur Erklärung des bei den größeren Hefemengen erhaltenen Unterschiedes herangezogen werden können; die Unterschiede sind wohl mehr auf die unzweckmäßige und verschiedene Verteilung des Bodenkörpers bei den Versuchen zurückzuführen. Der Titrationsversuch zeigt uns noch, daß es sehr wohl möglich und vielleicht auch praktisch sein dürfte, den Wassergehalt der Preßhefe auf diesem Wege zu bestimmen; man hätte nur statt der Salzsäure n-Schwefelsäure oder eine etwas schwächer dissoziierte organische Säure zu nehmen.

Vielleicht dürfte es zweckmäßig sein, bei solchen messenden Bestimmungen Dauerhefe von Albert-Buchner-Rapp zu verwenden, welche nach den Versuchen von R. und W. Albert gut gramfest ist; auf diese Arbeit wurde ich erst gegen Schluß vorliegender Arbeit bei der Darstellung des Buchnerschen Hefepreßsaftes aufmerksam.

## II. Einwirkung von Salzsäure auf Diphtherie-, Pseudodiphtherie-, Subtilis-, Milzbrand- und Acetinomycesbazillen.

Um festzustellen, ob außer Aureus, Mycoides und Hefe auch andere gramfeste Bakterien durch Säuren ihre Gramfestigkeit verlieren, wurden Diphtherie-, Pseudodiphtherie-, Subtilis-, Milzbrand- und Actinomycesbazillen auf ihr Verhalten gegen Salzsäure (2 n und $^{n}/_{1}$), die nach den bisherigen Beobachtungen am stärksten wirkende Säure, geprüft.

Die Versuchsanordnung schließt sich der auf S. 248 geschilderten an, nur weniges ist dem zuzufügen. In den meisten Fällen wurde das Bakterienmaterial auf Agar übergeimpft, nur Diphtherie auf Löfflers Serum und Pseudodiphtherie auf Blutserum. Da Actinomyces ein schwaches Wachstum zeigt, mußten 10 Tage alte Kulturen benutzt werden; die Gramfärbbarkeit leidet zwar darunter; doch genügte das Material in seiner Beschaffenheit für diesen Zweck. Die Milzbrandkulturen (bezeichnet mit Nr. I, II und III) entstammten der Sammlung des Hygienischen Instituts, Nr. I und II waren ältere Kulturen, von Nr. III wurde durch einen Versuch die Virulenz festgestellt. Schließlich wäre noch zu bemerken, daß zu den Aufschwemmungen in Salzsäure nicht zentrifugiertes Material genommen wurde. — Die hierzu gehörige Tabelle ist weggelassen worden.

Die Ergebnisse lassen sich kurz dahin zusammenfassen, daß auch Diphtherie-, Pseudodiphtherie-, Subtilis-, Milzbrand- und Actinomycesbazillen durch 2n- bis $^{n}/_{1}$-Salzsäure bei Temperaturen von 25 und 36° gramfrei werden. Der Verlauf dieser Umwandlung ist der gleiche wie bei Aureus, Mycoides und Hefe. Im einzelnen möge folgendes hervorgehoben werden. Eigenartig ist es, daß bei manchen Diphtheriebazillen nur Teile des Zellleibes ihre Gramfarbe einbüßen, wobei an Stelle derselben die Fuchsinfärbung einsetzt. Bei den drei Milzbrandstämmen lassen die Kontrollproben bereits Unterschiede im Färbungsvermögen erkennen. Obwohl die Stämme zweimal auf Agar übergeimpft waren, zeigen sie eine etwas verschieden starke Färbbarkeit, und zwar nimmt diese, wie es scheint, von Nr. I bis III zu; Nr. III, der virulente Stamm, ist am gleichmäßigsten nach Gram gefärbt, ein wenig schwächer Nr. II. Auf jeden Fall sind sie besser gramfest als Nr. I. In dem Verhalten von Nr. I und II gegen 2n-Salzsäure bei 25° macht sich gleichfalls ein Unterschied bemerkbar: unter sonst gleichen Versuchsbedingungen (also bei gleicher Säurekonzentration = 2 n und bei gleicher Temperatur = 25°) ist der Stamm Nr. I nach 4 Tagen durch Salzsäure zum größten Teil gramfrei geworden, während bei Nr. II die Umwandlung nur bis etwa zur Hälfte vorgeschritten ist. Da die Aufschwemmung von Nr. III einer höheren Temperatur (36°) ausgesetzt war, so läßt die Verschiedenheit in





der Temperatur keinen Vergleich mit Nr. I und II in dem Verhalten gegen Salzsäure zu. Hervorzuheben ist noch, daß bei Stamm Nr. II nach 7tägiger Einwirkung der Salzsäure Differenzierungen im Innern der roten Fäden sichtbar wurden; sie machten sich durch Unterschiede in der Farbstärke bemerkbar.

Auch bei diesen Versuchen zeigte es sich, daß nach einer gewissen Einwirkungszeit der Salzsäure ein großer Teil der Stäbchen und Fäden einer (wahrscheinlich kolloidalen) Auflösung entgegengehen; die Stäbchen und Fäden ballen sich hierbei nach Verlust ihrer Form zu mehr oder minder dichten gramfreien Häufchen zusammen.

Aus allem ergibt sich, daß Säuren bei geeigneter Stärke und Temperatur gramfeste Bakterien in gramfreie umwandeln, und daß die H-Ionen es sind, welchen diese Umwandlung zugeschrieben werden muß. Ob die Salzsäure in der Stärke der Umwandlung eine Ausnahmestellung gegenüber den anderen Säuren einnimmt, mag unerörtert bleiben. Nach allen Beobachtungen drängte sich mir die Vermutung auf, daß diesem Vorgange ein der Hydrolyse oder Verseifung von Estern, Anhydriden oder ähnlichen Verbindungen analoger Prozeß zugrunde liegen möchte. Darum erschien es angebracht, auch die OH-Ionenwirkung gegenüber den Bakterien zu prüfen.

### III. Einwirkung von Alkalien auf Aureus, Mycoides und Hefe.

Um die OH-Ionenwirkung auf die Färbbarkeit dieser Bakterien nach Gram zu prüfen, wurden Kalilauge, Kalikarbonat, Natriumkarbonat und in einem Falle Ammoniak, alle in wässeriger Lösung, für die Untersuchungen benutzt. Von den genannten Alkalien ist nur Kali eine starke Base, während die Alkalikarbonate und Ammoniak wesentlich geringere Mengen OH-Ionen besitzen. Das Bakterienmaterial kam wiederum in Form von Aufschwemmungen in Reagenzgläsern (und immer aus Jenenser Glase) zur Verwendung, nur Ammoniak wurde in einer kleinen, gutschließenden Glasstöpselflasche untersucht. Die Versuchsanordnung ist im allgemeinen die gleiche wie früher. Da die hierher gehörige Tabelle weggelassen worden ist, so sind zum besseren Verständnisse des Folgenden einige wichtige Punkte der Versuchsanordnung mitzuteilen.

Färbemethode war: je 1 Minute und $^1/_2$ Minute Alkohol tröpfeln.

Aureus

**+ 0·1 n-Kalilauge (0·6 Proz.) bei 17°,**
**+ 0·18 n-Kalilauge (1 Proz.) bei 36°,**
**+ $^1/_1$ n-Kaliumkarbonat (6·9 Proz.) bei 17 und 25°,**
**+ $^1/_1$ n-Natriumkarbonat (10·6 Proz.) bei 17 und 25°,**
**+ 0·1 n-Natriumkarbonat (1·1 Proz.) bei 17 und 25°,**
**+ 5·9 n-Ammoniak (10 Proz.) bei 36°.**



**Mycoides**

**+ 0·04 n-Kalilauge (0·2 Proz.) bei 36°,**
**+ 0·1 n-Kalilauge (0·6 Proz.) bei 17°,**
**+ 0·18 n-Kalilauge (1 Proz.) bei 36°,**
**+ $^1/_1$ n-Kaliumkarbonat (6·9 Proz.) bei 17°.**

**Hefe**

**+ $^1/_4$ n-Kalilauge (1·4 Proz.) bei 17°,**
**+ 0·5 n-Kalilauge (2·8 Proz.) bei 17°,**
**+ $^1/_1$ n-Kaliumkarbonat (6·9 Proz.) bei 17 und 25°,**
**+ $^1/_1$ n-Natriumkarbonat (10·6 Proz.) bei 17 und 25°.**

Das Ergebnis ist, daß auch Alkalien unter geeigneten Temperatur- und Konzentrationsbedingungen imstande sind, Aureus, Mycoides und Hefe gramfrei zu machen; die Konzentration der Lauge (KOH) darf, wie es scheint, unter ein gewisses Mindestmaß nicht heruntergehen, wenn man den Versuch von Mycoides mit 0·2prozentiger Kalilauge in Betracht zieht, wo Mycoides bei einer Versuchsdauer von 8 Tagen trotz der auf 36° erhöhten Temperatur nur recht wenig verändert wurde. Noch weniger beeinflußt wurde Aureus durch 0·6prozentige Lauge bei Zimmertemperatur und einer Dauer von 19 Tagen. Es ist wahrscheinlich, daß die Stärke der Konzentration, bei welcher Kalilauge noch einzuwirken vermag, ein wenig verschieden bei Aureus, Mycoides und Hefe sein wird, desgleichen die Höhe der angewandten Temperatur. Nach den Ausführungen auf S. 304 über die chemische Zusammensetzung der für die Gramfärbung maßgebenden Verbindungen ist anzunehmen, daß die Konzentration der Lauge im Verlaufe der Reaktion durch Bildung von Zersetzungsprodukten der Zellsubstanz geringer wird; ein Teil der KOH wird gebunden, wodurch die OH-Ionenkonzentration mehr oder weniger stark herabgemindert wird. Ein ähnliches Verhalten beobachten wir ja auch bei der Verseifung von Estern durch Lauge, wo die abgespaltene Säure die Lauge absättigt und sie so unwirksam macht.

Die Alkalikarbonate, wesentlich weniger in OH-Ionen gespalten als die Laugen, beeinflussen Aureus und Hefe unter den gleichen Versuchsbedingungen in verschiedener Weise. Während Aureus durch 1n-Soda- und -Pottaschelösung von 25° nach 37 bzw. 97 Tagen in seiner Gramfestigkeit nicht leidet, wird Hefe bei gleicher Behandlung nach 44 bis 45 Tagen fast völlig gramfrei. Erst eine 108tägige Einwirkung von $^n/_1$-Sodalösung bei 25° scheint Aureus in seinem Gramverhalten etwas zu beeinflussen.

Der Gedanke liegt nahe anzunehmen, daß diese unterschiedliche Einwirkung auf einer verschieden großen Durchlässigkeit der Membran der Bakterien (oder auch ihres Zellinhaltes) beruhe. Demnach müßte die





Membran der Hefe durchlässiger sein als die von Aureus; dies ist wenig wahrscheinlich, da Aureus bei einer 49-, ja 97tägigen Einwirkung der $^{n}/_{1}$-Pottaschelösung von 25° in seiner Gramfärbbarkeit nicht beeinflußt wurde. Daß es Inhaltstoffe der Bakterien sind, welche für die Erklärung des verschiedenartigen Einflusses der Alkalien und Alkalikarbonate herangezogen werden müssen, werden die weiteren Untersuchungen zeigen.

Schließlich ist die Wirkung des 5·9n-Ammoniaks[1] gegen Aureus bei 36° noch zu erörtern; sie ist trotz der ziemlich hohen Konzentration an $NH_3(NH_4OH)$ schwächer als die der 0·18n-Kalilauge (1prozentige) bei 36°. Der Unterschied läßt sich durch den verschieden großen Gehalt an OH-Ionen erklären; wie weit freilich sekundäre Einflüsse durch Ammoniak, eine im Vergleiche zu KOH labilere Verbindung, mitspielen, möge dahingestellt bleiben.

## IV. Einwirkung von Kalilauge auf Diphtherie, Pseudodiphtherie, Subtilis, Milzbrand und Actinomyces.

Diese Versuche schließen sich in ihrer Anordnung den unter I. mitgeteilten an und sind zu dem Zwecke unternommen worden, die Wirkung von Kalilauge auch auf andere gramfeste Bakterien zu prüfen; eine so eingehende Untersuchung wie beim Abschnitte I lag nicht in unserer Absicht.

Das Bakterienmaterial wurde für diese Versuche vorher nicht zentrifugiert; die Färbemethode war: je 1 Minute und $^1/_2$ Minute Alkohol tröpfeln; nur bei Actinomyces wurde der Alkohol $^1/_2$ Minute, ohne zu tröpfeln, auf dem Deckglas belassen (= je 1 Minute und $^1/_2$ Minute ohne Tröpfeln). Alle Proben säuerten wir bei der Entnahme schwach mit verdünnter Salzsäure an und zentrifugierten dann. An Stelle der hierher gehörigen Tabelle sei folgendes von der Versuchsanordnung mitgeteilt:

**Diphtherie**

+ 0·05 n-Kalilauge (0·25 Proz.) bei 20—25°,
+ 0·18 n-Kalilauge (1 Proz.) bei 36°.

**Pseudo-Diphtherie**

+ 0·18 n-Kalilauge (1 Proz.) bei 36°.

**Subtilis**

+ 0·04 n-Kalilauge (0·2 Proz.) bei 25°.

**Milzbrand (Kult. Nr. II)**

+ 0·04 n-Kalilauge (0·2 Proz.) bei 25°.

**Actinomyces**

+ 0·18 n-Kalilauge (1 Proz.) bei 36 und 0°.

[1] Ein anderer Versuch mit Ammoniak wurde unter Benutzung einer mit Korkstopfen verschlossenen Glasflasche an Stelle eines Glasstopfens ausgeführt und zwar mit dem gleichen Erfolge.



Die Versuche zeigen, daß 0·2- bis 1prozentige Kalilauge bei Temperaturen von etwa 25 und 36° die Bazillen von Diphtherie, Pseudodiphtherie, Subtilis und Milzbrand ziemlich unverändert läßt; bei Milzbrand ist selbst nach 19 Tagen und bei einer Temperatur von etwa 25° keine Wirkung durch 0·2prozentige KOH zu erkennen, nur Actinomyces, welcher freilich von Haus aus schon eine geringere Gramfestigkeit als die anderen Bakterien besaß (vgl. hierzu die Angaben auf S. 257), wurde durch 1prozentige Lauge bei 36° fast vollständig gramfrei. Die zum Vergleiche dienende Gegenprobe in destilliertem Wasser bei 0° zeigt klar, daß die Umwandlung des Aktinomyces der Wirkung des KOH im Verein mit der Temperatur von 36° zugeschrieben werden muß. Auffällig ist, daß Diphtherie und Pseudodiphtherie nach einer 12- bzw. 8tägigen Behandlung durch 1prozentige Kalilauge bei 36° kaum beeinflußt werden.[1] Wahrscheinlich werden sich bei einer eingehenderen Prüfung noch manche neue Beobachtungen ergeben. Vor allem wäre zu untersuchen, ob Erhöhung der Laugenkonzentration eine Umwandlung der Diphtherie-, Pseudodiphtherie, Subtilis- und Milzbrandbazillen in gramfreie herbeizuführen imstande ist (vgl. hierzu die Ausführungen auf S. 259).

### Kurze Zusammenfassung der letzten Abschnitte.

Aus ihnen läßt sich folgendes ableiten. Da die OH-Ionen die gleiche Wirkung auf Hefe, Mycoides, Aureus und Actinomyces ausüben wie die H-Ionen, so erhielt die Annahme, daß esterartige oder diesen ähnlich zusammengesetzte Verbindungen an der Umwandlung der gramfesten Bakterien in gramfreie beteiligt sein müssen, eine weitere Stütze.

Nach den in den letzten Abschnitten mitgeteilten Versuchen schien es von Interesse zu sein, auch auf gramfreie Bakterien diese und andere Reagenzien einwirken zu lassen. In Rücksicht auf später (vgl. S. 291) mitzuteilende Versuche wurde der Colibacillus gewählt, welcher bekanntlich hin und wieder eine schwach ausgeprägte Gramfestigkeit zeigt; in einem Falle wurde noch gramfreie Hefe herangezogen.

---

[1] Es mag darauf hingewiesen werden, daß nach neueren Untersuchungen (u. a. Langer, *Chem. Zentralbl.* 1916. Bd. II. S. 192) es noch ungewiß ist, ob sich Diphtherie und Pseudodiphtherie durch ihr Verhalten bei der Gramfärbung unterscheiden lassen.



## Verhalten gramfreier Kleinwesen.

### I. Einwirkung von Salzsäure, Kalilauge und Alkohol auf Coli.

Die Versuchsanordnung ist im allgemeinen die schon beschriebene. Folgende Angaben sind an Stelle der weggelassenen Tabelle zu machen. Benutzt wurde zentrifugiertes Bakterienmaterial; Färbemethode: a) je 1 Minute und $^3/_4$ Minute ohne Tröpfeln; b) je 1 Minute und $^1/_2$ Minute Tröpfeln und c) je 1 Minute und 1 Minute ohne Tröpfeln. Das Ausgangsmaterial der einen Kultur war nach a) teils ziemlich gut gramfest, teils blaurot, teils rot, nach b) durchwegs rot; das Material zwei weiterer Kulturen verhielt sich nach Färbemethode c) folgendermaßen: 2. Ausgangsmaterial = zum größeren Teile rot und bläulichrot, zum kleineren Teile ziemlich gramfest; 3. Ausgangsmaterial = blaßrot, blaurot, rotblau und nur wenig gramfest.

Das zentrifugierte Bakterienmaterial wurde bei 36° und auch bei 25° mit 2n-, $^n/_2$-Salzsäure, mit 0·09n-, 0·04n-, 0·02n-Kalilauge und mit 97prozentigem Alkohol bei 20 bis 25° angesetzt; die Dauer der Einwirkung wurde auf 3 Tage bis 3 Wochen ausgedehnt.

Die Versuche machen es wahrscheinlich, daß die Neigung des Colibacillus, sich zu einem Prozentsatze mehr oder weniger gramfest färben zu lassen, durch die Einwirkung von Salzsäure, Kalilauge bei einer Dauer von 3 bis 8 Tagen und von Alkohol (Dauer 3 Wochen) fast ganz zum Verschwinden gebracht werden kann. Es ist zu vermuten, daß die für die Gramfestigkeit des Coli maßgebenden Inhaltsstoffe durch Säure und durch Alkali chemisch verändert werden und zwar in ähnlicher Weise, wie es bei den gramfesten Bakterien geschieht. Hervorzuheben ist auch, daß in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Kruse und seinen Mitarbeitern Coli durch 0·5prozentige Kalilauge (= 0·09n) bei 36° nach 12 Stunden fast völlig aufgelöst wurde.

### II. Zur Einwirkung von Tanninlösungen auf gramfreie Hefe und Coli.

Wie schon erwähnt, hat Nikitine u. a. gefunden, daß Bakterien, welche durch Säuren oder Alkalien ihre Gramfestigkeit verloren hatten, bei einer einstündigen Behandlung derselben mit Löfflers Beize (also einer Fe-haltigen Tanninlösung) wieder gramfest würden. Nikitines Untersuchungen sind in den genannten Jahresberichten nur in aller Kürze wiedergegeben.

Zur Nachprüfung der Nikitineschen Versuche mit Löfflers Beize wurden Colibazillen und gramfreie Hefe benutzt; die Hefe war durch mehrtägige Einwirkung von 4n-Salzsäure bei 36° größtenteils gramfrei gemacht, worauf sie zur Entfernung der Salzsäure dreimal mit destilliertem Wasser zentrifugiert wurde. Die Colikultur wurde vor dem Versuche einmal mit destilliertem Wasser zentrifugiert. Zum Teil ließen wir Deckglasproben



eine festgesetzte Zeit in Löfflers Beize oder gesättigter Tanninlösung bei 36⁰ vollständig eintauchen, zum Teil mischten wir das Bakterienmaterial selbst (Colibazillen) mit der gesättigten Tanninlösung und setzten diese Mischung eine gewisse Zeit der Temperatur 36⁰ aus, worauf dreimal mit destilliertem Wasser zentrifugiert wurde; das Sediment wurde dann auf Deckgläser verteilt und wie die anderen Deckglasproben nach Gram gefärbt. An Einzelheiten bei der Versuchsanordnung mag noch folgendes erwähnt werden

Hefe (nahezu gramfrei). Die Einwirkungszeit von Löfflers Reagens wurde in dem einen Falle auf 3 Stunden, im anderen auf 4 Stunden ausgedehnt, jedesmal bei einer Temperatur von 36⁰.

Coli (zentrifugiert). Die Einwirkung von Löfflers Beize dauerte $5^1/_2$ Stunden, die der gesättigten wässerigen Tanninlösung 8 Stunden, jedesmal bei 36⁰.

Färbemethode bei beiden Bakterienarten war: je 1 Minute und $^1/_2$ Minute tröpfeln.

Wie aus den Versuchen hervorgeht, wurden die genannten Bakterien durch Tanninlösungen bei der geschilderten Anordnung nicht gramfest Am maßgebendsten scheint mir der Versuch zu sein, wo Colibazillen direkt mit der Tanninlösung vermischt waren und mit derselben allseitig in Berührung kamen, was wohl bei einer Behandlung von Deckglasproben mit Tanninlösung nicht der Fall sein dürfte. Ungewiß bleibt es noch, ob dem Tannin eine positive Gramfärbbarkeit zukommt. Bei der üblichen Methode der Gramfärbung scheint das Tannin fast ganz vom Deckglase herausgelöst zu werden.

Nikitines Angaben über die Umwandlung gramfrei gewordener Bakterien in gramfeste durch Löfflers Beize treffen, soweit Coli und gramfreie Hefe in Frage kommen, demnach nicht zu.

Wenn uns die im vorstehenden niedergelegten Ergebnisse einen Einblick in das Wesen der Gramreaktion gebracht haben, so war es doch noch erforderlich, andere Reagenzien auf gramfeste Bakterien einwirken zu lassen. Besonders organische Lösungsmittel, wie Alkohol, Azeton, Benzol und ähnliche, haben in Hinblick auf ihr Lösungsvermögen von „Lipoiden“ in Bakterienleibern und weiterhin auch durch die Verwendung dieser Lösungsmittel in der Bakteriologie und verwandten Zweigen eine Bedeutung erlangt, welche eine umfassende und gründliche Durchforschung dieser Fragen verlangte; es war zunächst zu ermitteln, ob durch andere Reagenzien und Lösungsmittel außer Säuren und Alkalien die Gramfestigkeit von Bakterien beeinflußt wird, und welcher Art die Substanz ist, welche die Gramfestigkeit bedingt. Im Anschlusse hieran gab es dann einige andere Fragen zu erledigen, um unserem gesteckten Ziele näherzukommen.



## I. Über die Einwirkung von organischen Lösungsmitteln, Chloralhydratlösungen und Wasser auf Hefe, Mycoides und Aureus bei verschiedenen Temperaturen.

Um den Einfluß von organischen Lösungsmitteln usw. auf Bakterien zu ermitteln, wurden diese 1. in Form von Aufschwemmungen, 2. von Deckglaspräparaten untersucht, welche, wie auf S. 246 erwähnt, hergestellt waren. Bei Aufschwemmungen wurden in vielen Fällen das Lösungsmittel wie Essigester, Chloroform, Benzin, Toluol nicht unverdünnt hinzugegeben, sondern wir schüttelten das Bakterienmaterial zuerst mit etwas Alkohol an und fügten dann das betreffende Lösungsmittel zu. Hierdurch sollte nach Möglichkeit die Bildung von Bakterienklümpchen vermieden werden. In manchen Fällen wurde eine Verdünnung mit Alkohol nicht vorgenommen, um die Wirkung des unverdünnten Lösungsmittels besser hervortreten zu lassen. Diejenigen Versuche, bei denen man die Erhitzung auf 65° und höher gehen ließ, wurden in sogen. Azetylierungskölbchen[1] vorgenommen. Diese eiförmigen Glaskölbchen mit eingeschliffenem Steigrohre eignen sich — besonders in verkleinertem Maßstabe — recht gut für diese Art von Versuchen. Wurde das Bakterienmaterial in Form von Aufschwemmung hierbei benutzt, so blieb nach dem Erhitzen fast regelmäßig ein Teil der Bakterienmasse an der Glaswandung des sich verjüngenden Endes des Eikölbchens fest haften, während der andere Teil in der Flüssigkeit aufgeschwemmt blieb. Deshalb sind die Bezeichnungen im folgenden „Satz. Rand" so zu verstehen, daß dasjenige Bakterienmaterial, welches aufgeschwemmt blieb, kurz als „Satz", das, was an den seitlichen Gefäßwandungen haftete, kurz als „Rand" benannt wurde. Von den Deckglasproben wurde immer nur eine in jedem Eikölbchen erhitzt.

Betreffs der Herstellung der Deckglaspräparate ist dem früher Gesagten nichts hinzuzufügen. Nach der Behandlung mit dem Lösungsmittel wurden die Reste desselben, falls sie flüchtig waren, im Vakuumexsikkator über $CaCl_2$ entfernt, Anilin dagegen durch 2 prozentige Salzsäure und darauffolgende Wasserspülung und Tetrachloräthylen durch vorsichtige Wasserspülung.[2]

Die Aufschwemmungen wurden entweder einmal zentrifugiert oder es wurde eine Probe ohne weiteres auf ein Deckglas gebracht, angetrocknet und je nach Beschaffenheit des angewandten Lösungsmittels, wie oben angegeben, behandelt; mit dem Zentrifugat wurde in der gleichen Weise verfahren. Die Aufschwemmungen in Chloralhydratlösung wurden vor der Herstellung von Deckglaspräparaten jedesmal erst mit Alkohol und darauf mit Wasser zentrifugiert. Die Glasgefäße der bei 36° angesetzten Proben waren statt mit Kork mit eingeriebenem Glasstopfen versehen, damit nicht Spuren von Extraktivstoffen der Korksubstanz die Reaktionflüssigkeit verunreinigten. Von den Chloralhydratlösungen kamen nur frisch dargestellte zur Anwendung; Anilin wurde vor dem Gebrauche frisch destilliert, des-

[1] Vgl. z. B. die Figur in Gildemeister-Hofmann, *Ätherische Öle.* 1910. Bd. I. S. 594.

[2] Für diese Versuche wurde nur Luftbad benutzt, nie direkte Feuerung.



gleichen Tetrachloräthylen (Kahlbaumsches Präparat) durch fraktionierte Destillation unter den hier gegebenen Vorsichtsmaßregeln: Siedepunkt 121°.

An Stelle der fortgelassenen, sehr umfangreichen Tabelle mag folgendes hieraus mitgeteilt werden. An Lösungsmitteln kamen zur Anwendung: 67prozentige wässerige und wässerig-alkoholische Chloralhydratlösung, Alkohol und Azeton in verschiedenen Stärken, Essigester, Chloroform, Benzin (Siedetemp. 90 bis 110°), Toluol, Anilin und Wasser nur bei der Temperatur von 97 bis 98° (d. i. Temperatur des Gefäßinhaltes in siedendem Wasserbade). Die Deckglasproben wurden vor dem Färben, wie schon angegeben, nicht fixiert, nur in einigen besonders vermerkten Fällen wurde das Deckglas durch die kleine oder auch durch die volle Bunsenflamme vorsichtig fixiert. Lösungsmittel wie Alkohol, Azeton, Essigester, Chloroform wurden bei mehrstündiger Erhitzung in manchen Fällen erneuert. Die Färbemethode war überall: je 1 Minute und $^1/_2$ Minute tröpfeln. Die bei den im folgenden kurz wiedergegebenen Versuchen angewandte Temperatur wechselte je nach Bedarf von Zimmertemperatur (etwa 17°) bis 90° (bei Benzin), 97° (bei Wasser), 70 bis 98° (bei Toluol) und in einem Falle bis 119° (bei Tetrachloräthylen).

## 1. Hefe (in Form von Aufschwemmungen).

67prozentige wässerige Chloralhydratlösung ruft keine Veränderung weder bei Zimmer- (Dauer 6 Tage) noch bei Brutschranktemperatur (Dauer 12 Stunden) hervor; daß nach der Chloralhydratbehandlung sich eine Probe beim Erhitzen mit Alkohol auf 85° gramfrei verhält, ist einzig und allein auf die HCl-Wirkung zurückzuführen. Übrigens haftet bei längerer Einwirkung die Salzsäure der Hefezelle bzw. deren Eiweißverbindungen ziemlich fest an.

Alkohol sowohl wie Azeton (in 60prozent. Lösungen) wirken bei einer Dauer von 23 Tagen und einer Temperatur von 25° nicht ein. 60prozent. und stärkerer Alkohol hydrolysiert oder spaltet beim Erhitzen der Hefe auf 85 bis 95° die für die Gramfärbung in Betracht kommende Eiweißverbindung erst dann, wenn die Zellmembran durchlässiger geworden ist. Aus diesen Versuchen geht auch hervor, daß die Membran heißem Alkohol großen Widerstand entgegensetzt; wässeriger Alkohol scheint wirksamer zu sein als 99prozentiger. Azeton (etwa 100 Prozent) ist schwächer, als Alkohol unter gleichen Bedingungen, freilich der niedrigere Siedepunkt des Azetons (65°) wird hierbei auch von Belang sein. Ähnlich verhält sich heißer Essigester (75°), am kräftigsten wirkt aber Wasser von 96 bis 97°; auch hier wird die Höhe der Temperatur mit eine Rolle bei der Zersetzung der Zellsubstanz spielen. — Einen deutlichen Unterschied zeigen Chloroform, Benzin, Toluol bei höherer Temperatur (65 bis 90°); der Einfluß dieser heißen Lösungsmittel auf die Hefezelle ist nur ein geringer, vielleicht ist er nur auf Rechnung des zur Verteilung des Bakterienmaterials beigegebenen Alkohols zu setzen.



Die obigen Versuche mit Alkohol, Azeton, Essigester und Wasser bei den Temperaturen von 65 bis 97° machen die Annahme wahrscheinlich, daß die OH-Gruppe oder eine dieser analog zusammengesetzte Atomgruppe im Molekül dieser Lösungsmittel die Veränderung der Zellensubstanz bedingen. Beim Azeton könnte man annehmen, daß sich die Ketogruppe bis zu einem gewissen Prozentsatze in die Enolform umlagert: $CH_3-CO-CH_3 \rightleftarrows CH_2 = C(OH)-CH_3$. Beim Essigester ist keine freie OH-Gruppe im Molekül vorhanden, das H-Atom ist hier durch das Säureradikal $CH_3CO^-$ ersetzt; dieser substituierten Hydroxylgruppe wäre die erwähnte Wirkung zuzuschreiben. Eine Stütze findet diese Annahme in dem Verhalten von Chloroform, Benzin, Toluol; es sind das Lösungsmittel, die keine Hydroxylgruppe oder analog zusammengesetzte Atomgruppe enthalten. Diese Beobachtung erinnert an eine nicht sehr bekannte Tatsache, daß bestimmte Klassen von chemischen Verbindungen (z. B. Nitrate) sich nur in solchen Lösungsmitteln bequem lösen, welche im Molekül eine OH-Gruppe besitzen oder wo der Wasserstoff der Hydroxylgruppe durch ein Säure- oder Alkoholradikal ersetzt ist. So z. B. löst sich das Uranylnitrat $UrO_2(NO_3)_2$ 6aq. in Wasser, Methyl-, Äthyl-, Amylalkohol, Glyzerin, Äther, Essigester, Amylenhydrat, Amylnitrit, Amylazetat, Phenol und Azeton mehr oder weniger reichlich, unlöslich dagegen ist es in Benzin, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Toluol, Terpentinöl (Deußen).

### Deckglaspräparate.

Die Versuche bei höherer Temperatur mit Alkohol, Azeton, Essigester und Benzol haben nach einer anderen Richtung als die eben besprochenen Versuche eine Bedeutung. Es wurden nämlich Deckglaspräparate benutzt, welche entweder unfixiert (d. h. getrocknet im Vakuumexsikkator) oder in der üblichen Weise fixiert waren (durch dreimaliges kurzes Durchziehen des Gläschens durch die Bunsenflamme). Deutlich zeigt sich hier der Einfluß der Fixierungsmethode auf den Ausfall der Gramreaktion, besonders tritt dies beim Alkohol zutage. Ohne Zweifel wird man bei der Ausführung dieser Reaktion die einwandfreiesten und sichersten Ergebnisse erhalten, wenn man ein Erwärmen der lufttrockenen Deckglaspräparate unterläßt. Nach meinen Beobachtungen trifft dies nicht nur für Hefe zu, sondern auch für Aureus und Mycoides. — Die Versuche mit Toluol und Anilin zeigen folgendes. Toluol gehört chemisch zu den sog. indifferenten Lösungsmitteln, Anilin der Amingruppe wegen zu den differenten. Die Toluolprobe wurde auf 99° erhitzt; es ergab sich hierbei, daß, obwohl das Präparat ohne Anwendung von Wärme, nur durch Aufbewahrung im Vakuumexsikkator fixiert worden war, ein großer Teil der Hefezellen die Gramfestigkeit ver-



loren hat. Es ist dies wohl nur auf die Höhe der Erhitzung zurückzuführen. Daß Anilin bei einer Temperatur von 80° verändernd auf die Hefezelle wirkt, schreibe ich dem basischen Charakter der $NH_2$-Gruppe zu. — Die Versuche bei Brutschranktemperatur (36°) mit Azeton, Chloroform und Toluol sind mit Rücksicht auf die Reichertschen unternommen worden. Im Gegensatz zu den Reichertschen Ergebnissen tritt eine Änderung in der Gramfärbung bei trocknen Deckglaspräparaten, wie sie durch Stehen im Vakummexsikkator erhalten werden, nicht ein. Eingehend wird die Reichertsche Arbeit im nächsten Kapitel besprochen werden.

### 2. Mycoides (in Form von Aufschwemmungen).

Durch 67prozent. wässerige Chloralhydratlösung bei Zimmertemperatur wird der Bacillus nur wenig in der Gramfärbung beeinflußt; bei 10tägiger und längerer Behandlung mit diesem miskroskopisch wichtigen Lösungsmittel bleibt im allgemeinen wohl die Gramfarbe bestehen, jedoch in der Form der Stäbchen tritt eine auffallende Änderung ein: die Stäbchen sind perlschnurartig angeordnet. Es hat den Anschein, als ob aus dem Bakterienleibe Zellsubstanz zonenartig herausgelöst sei. Daß eine Herauslösung von Bakteriensubstanz durch Chloralhydrat stattfinden kann, wird durch die interessanten, schon angeführten Versuche von Mauch wahrscheinlich gemacht; er fand, daß 60- und stärkerprozentige Chloralhydratlösungen im Wasser und in Alkohol ein gutes Lösungsmittel für viele organische Verbindungen sind, wie Glykoside, Alkaloide, Bitterstoffe, die meisten Harze, Zuckerarten, Dextrine, Gummiarten Gelatine, Keratin, Stärke, Eiweißarten, weniger löslich sind die flüssigen und festen Fette. — Für die Versuche bei höherer Temperatur wurden nur Alkohol, Azeton, Essigester und Wasser benutzt. Die Wirkung dieser Lösungsmittel ist im allgemeinen die gleiche wie die bei der Hefe beobachtete. Alkohol und Azeton, besonders in wässeriger Verdünnung, verändern den Mycoides schneller als Hefe unter ähnlichen Bedingungen. Länger als 1 Stunde andauerndes Erhitzen des Mycoides mit Wasser von 97° beeinträchtigt seine Gramfestigkeit.

### Deckglaspräparate.

Für die Versuche bei Temperaturen von 75 bis 98° fanden Alkohol, Essigester, Benzol, Toluol, Anilin und Tetrachloräthylen Verwendung. Sieht man hierbei von den chemisch differenten Lösungsmitteln Anilin und Tetrachloräthylen ab, so ist bei den nicht fixierten Proben kein Unterschied in der Wirkung der einzelnen Lösungsmittel erkennbar, viel deutlicher tritt die Art des Fixierens der Deckglaspräparate in den Vordergrund.

Wie bei der Hefe, so zeigt es sich auch hier, daß ein Trocknen der Gläschen im Vakummexsikkator die sichersten Ergebnisse liefert. Bei der auf 98° erhitzten, nicht fixierten Toluolprobe ist ein Einfluß der hohen Erhitzung bemerkbar, wenn auch nicht in demselben Grade, wie es das Toluol-Hefepräparat zeigt. Im Anilin und Tetrachloräthylen haben wir 2 entgegengesetzte Vertreter von Lösungsmitteln: Anilin ist schwach basischer Natur, Tetrachloräthylen dadurch ausgezeichnet, bei Spuren von Feuchtigkeit Salzsäure abzuspalten. Die glatte Wirkung dieses letzteren Lösungsmittels bei Mycoides ist einzig und allein auf die abgespaltene Salzsäure zurückzuführen; eine etwas geringere Umwandlung der Stäbchen beobachten wir beim Anilinpräparate. — Die Versuche bei Brutschranktemperatur wurden mit Deckglaspräparaten ausgeführt, welche durch eine kleine Bunsenflamme vorsichtig fixiert worden waren. Bis auf die Tetrachloräthylen- und Anilinprobe war eine wesentliche Änderung in der Gramfärbung nicht festzustellen. Tetrachloräthylen wirkte durch Abspaltung von Salzsäure, während Anilin (bei 36°) eine geringere Umwandlung der Stäbchen hervorrief als bei höherer Temperatur. Die Azetonversuche lehren uns, daß der Korksubstanz durch Azetondämpfe Stoffe entzogen werden können, welche den Ausfall der Gramreaktion stark beeinflussen.

3. Aureus (in Form von Aufschwemmungen).

Die Versuche lehren, daß Alkohol und Azeton bei den Temperaturen 17 bis 25° und einer Dauer von 2 bis 3 Wochen Aureus mehr oder weniger gramfrei machen, dagegen nicht 67prozent. alkoholische Chloralhydratlösung und das Gemisch von Chloroform mit verdünntem Alkohol; es hat den Anschein, als ob Aureuskulturen gegen Alkohol und Azeton manchmal widerstandsfähiger sind, manchmal weniger durch diese Lösungsmittel beeinflußt werden, eine ähnliche Beobachtung hat auch Patzschke gemacht. Bei erhöhter Temperatur, 65 bis 85°, wirken Alkohol und Azeton naturgemäß noch schneller; der Einfluß des Wassergehaltes des Alkohols macht sich wie bei den analogen Versuchen mit Mycoides auch hier bemerkbar: 60prozent. Alkohol wirkt energischer als 96prozent. Auffallend widerstandskräftig ist Aureus gegen Wasser von 98°, $1^1/_2$stündiges Erhitzen ändert nichts an dem normalen Ausfall der Gramreaktion, während Hefe und Mycoides bei gleicher Behandlungsweise in ihrer Gramfestigkeit geschädigt werden.

Deckglasproben.

Von Lösungsmitteln für die Versuche bei Temperaturen von 65° und höher wurden benutzt: Alkohol, Essigester, Chloroform, Tetrachloräthylen,



Benzol, Toluol und Anilin. Alle, mit Ausnahme von Alkohol und Toluol, beeinflussen chemisch die Zellstoffe unter den angegebenen Bedingungen nicht. Alkohol wirkt bei einer Versuchsdauer von mindestens 4 Stunden ein, in geringerem Maße Toluol von 98°; übrigens wurden Hefezellen, wie schon erwähnt, durch so hoch erhitztes Toluol stärker angegriffen. Nach allem verhält sich Aureus etwas widerstandsfähiger als Hefe und Mycoides bei gleicher Versuchsanordnung. — Azeton, Essigester, Chloroform, Toluol, Anilin und Tetrachloräthylen bei Brutschranktemperatur (36°) beeinflussen mit Ausnahme von Tetrachloräthylen die Gramfestigkeit der Kokken nicht im geringsten. Daß diese durch Tetrachloräthylen gramfrei werden, ist auf die Abspaltung von HCl bei der 4tägigen Einwirkung zurückzuführen; durch den Glasstöpselverschluß wird die sich abspaltende Salzsäure in dem benutzten Glasgefäße zum größeren Teile zurückgehalten und wirkt so auf die für die Gramfärbung maßgebenden Inhaltsstoffe der Kokken allmählich ein, jedoch langsamer, als es bei Mycoides der Fall ist.[1]

## II. Zur Reichertschen Arbeit „Beiträge zur Gramfärbung".

Die im vorigen Abschnitte mit Hefe, Mycoides und Aureus angestellten Versuche bei 36° wurden, wie schon erwähnt, in Hinblick auf die Reichertschen Untersuchungen vorgenommen; seine Versuchsanordnung bestand darin, daß er das Bakterienmaterial (Milzbrand- und Diphtheriebazillen) mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung scharf zentrifugierte und das Zentrifugat feucht mit organischen Lösungsmitteln (Xylol, Benzin, Benzol, Azeton, Tetrachloräthylen, Anilin u. an) in Spitzgläsern, mit Gummistopfen verschlossen, 4 (bis 10) Tage bei 36° stehen ließ. Bei der Ausführung der Gramreaktion nahm er an Stelle von Alkohol ein Gemisch von Azeton und Alkohol, zum Nachfärben ebenfalls Fuchsinlösung. Die Reichertschen Tabellen über die Wirkung genannter Lösungsmittel auf Milzbrand- und Diphtheriebazillen zeigen, daß diese Bakterien durch 4-tägige Behandlung bei 37° mit Azeton, Anilin, Benzin, Benzol, Xylol und Tetrachloräthylen mehr oder weniger gramfrei wurden; Staphylokokken, mit Xylol, Anilin, Benzin, Tetrachloräthylen 4 Tage bei 37° behandelt, verloren gleichfalls ihre Gramfestigkeit. Den Tuberkelbacillus gramfrei zu machen, gelang Reichert nur mittels Tetrachloräthylens bei 10-tägiger Bebrütung; Xylol, Benzin, Benzol und Anilin ließen diesen Bacillus unverändert — in Übereinstimmung mit der Beobachtung von Aronson.

Die Reichertschen Schlußfolgerungen mögen kurz zusammengestellt werden.

Der Verlust der Gramfestigkeit beruht nach ihm auf der Extraktion von Lipoiden durch organische Lösungsmittel. Die für die Gramfärbung

[1] An dieser Stelle möge darauf hingewiesen werden, daß Tetrachloräthylen für derartige Versuche das ungünstigste Lösungsmittel ist.



in Betracht kommende Substanz, meint Reichert, sei ein bei verschiedenen Pilzarten wechselndes Gemisch von Lipoiden; die Gramfarbe sei als eine Bindung von Amidophenylmethanen an Lipoide gewisser Bakterien unter Vermittlung des Jods zu betrachten, die Bindung des Jods mit Amidophenylmethan und Lipoid sei so fest, daß sie durch Säure oder Alkohol nicht gelöst werde, ganz im Gegensatz zu der Auffassung von Unna, der annimmt, daß Jod hierbei keine Verbindung mit dem Substrat eingeht. Reichert ist der Ansicht, daß es ihm gelungen sei, rein färberisch eine Reihe von Tatsachen aufzufinden, welche einerseits die physikalischen Erklärungen, besonders die Eisenbergs[1], unhaltbar, anderseits eine chemische Bindung des Farbstoffes als höchst wahrscheinlich machen.

Reichert benutzte, wie ersichtlich, für seine Untersuchungen wasserhaltiges (feuchtes) Bakterienmaterial bei einer Temperatur von 37°. Das anhaftende Wasser wird hierbei von den angewandten Lösungsmitteln Xylol, Benzol, Benzin, Anilin nicht oder nur spurenweise gelöst, ausgenommen Azeton und Tetrachloräthylen. Azeton wird zu einer schwach wasser- und kochsalzhaltigen Flüssigkeit, während Tetrachloräthylen $\begin{matrix}CCl_2\\|\\CCl_2\end{matrix}$ mit dem vorhandenen Wasser Salzsäure in geringen Mengen bildet und so als HCl-haltiges Tetrachloräthylen zu betrachten ist. Sieht man zunächst von den beiden Fällen mit Azeton und Tetrachloräthylen ab, so ist bezüglich der Reichertschen Versuchsanordnung darauf hinzuweisen, daß derartige Versuche mit feuchtem Bakterienmateriale nach den Erfahrungen von W. Kruse Veranlassung zu autolytischen Prozessen geben, welche Gramfreiheit vortäuschen können. Die in dieser Arbeit mitgeteilten Ergebnisse sprechen zugunsten dieser Vermutung. Eine Extraktion (ein Herauslösen) von Lipoiden oder ähnlichen Verbindungen aus der Bakterienzelle durch organische Lösungsmittel findet nicht statt, sondern die für die Gramfestigkeit in Betracht kommenden Verbindungen werden chemisch gespalten; daß hierbei lipoidartige Verbindungen frei werden, ist nicht unwahrscheinlich. Diese Spaltung kann sowohl durch Säuren und Alkali als auch durch Lösungsmittel erfolgen, welche eine Hydroxylgruppe oder analog zusammengesetzte Atomgruppe besitzen. Die von Reichert durch Azeton herbeigeführte Umwandlung des Milzbrand- und Diphtheriebacillus bedarf einer Nachprüfung. Daß HCl-haltiges Tetrachloräthylen gramfeste Bakterien in gramfreie umwandeln kann, ist nach allem bisher Gesagten erklärlich.

---

Die Ergebnisse, welche Reichert bei der Behandlung von feuchtem Bakterienmaterial mit organischen Lösungsmitteln bei 37° erhalten hatte,

[1] Nach E. beruht die Gramfestigkeit auf der größeren Dichtigkeit des „Ektoplasmas", welches die großen Jodfarbstoffmoleküle zurückhalten soll.

gaben die Veranlassung, das Verhalten gramfester Bakterien bei der Selbstverdauung und einigen anderen Vorgängen zu prüfen, unter besonderer Berücksichtigung des Ausfalles der Gramreaktion hierbei.

## Über Verdauungserscheinungen gramfester Kleinwesen.

### 1. Aureus, Mycoides und Hefe.

Wie in der Einleitung bereits angedeutet, stellte W. Kruse anfänglich allein, dann in Gemeinschaft mit Bürgers, Schermann und Schreiber vergleichende Untersuchungen über die morphologischen Verhältnisse bei der Selbstverdauung bestimmter Bakterien an; sie setzten gleichstark trübe Aufschwemmungen frischer Agarkulturen in physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von wenig Chloroform oder Toluol der Brutschranktemperatur von 37⁰ aus. Sie beobachteten, daß nach 24 bis 48 Stunden Staphylokokken und Megatherium (gramfeste Bakterien) makro- und mikroskopisch keine Veränderung in Form von Färbbarkeit zeigten; **umgekehrt** klärten sich die Aufschwemmungen von Pseudodysenterie, Typhus-, Paratyphus- und Pneumoniebazillen mehr oder weniger auf, die Bazillen färbten sich schlechter. Die Aufhellung führte bisweilen bis zur völligen Lösung der Bakterien. Wurden sie jedoch vorher auf 60 bis 100⁰ erhitzt oder bei niedriger Temperatur gehalten, so konnten Aufklärungserscheinungen gar nicht oder nur in geringen Grade nachgewiesen werden. Als wichtigste Ursache für diese Erscheinungen nimmt Kruse eine Zerstörung oder Schädigung der Enzyme der Selbstverdauung durch die hohe Temperatur an. Bürgers, Schermann und Schreiber setzten Kruses Untersuchungen fort; sie ließen auf eine große Anzahl Bakterien Lösungen von Kochsalz, Trypsin, Pepsinsalzsäure, ferner Kalilauge und Salzsäure bei 37⁰ unter Zusatz von wenig Chloroform einwirken. Die Versuche mit physiologischer Kochsalzlösung ergaben eine mehr oder minder starke Aufhellung der Aufschwemmungen bei der größeren Anzahl der untersuchten Bakterien (auch des gramfesten Milzbrandbacillus) mit Ausnahme der gramfesten Staphylokokken, Streptokokken, Schimmelpilze, Hefe und von Megatherium. Erhitzt zeigten die Bakterien keinerlei Auflösungserscheinungen, nur Meningokokken und Milzbrandbazillen lösten sich trotz vorhergegangener Erhitzung des Materials auf 60 bzw. 60 bis 80⁰ etwas auf. Bei der Trypsinverdauung wurden die gramfreien Bakterien mehr oder weniger stark gelöst, dagegen nicht die gramfesten, ausgenommen Pneumokokken, Milzbrand und Actinomyces. Oftmals ist die Verdauung schwächer bei den auf 60⁰ erhitzten gramfreien Bakterien als bei den auf 100⁰. Hinsichtlich der Erklärung dieser auffallenden Erscheinung schließen sich Bürgers, Schermann und Schreiber der Auffassung Kruses an, daß „die Erhitzung auf 60⁰ das Protoplasma der Bakterien (durch Gerinnung?) in einen schwerlöslichen Zustand versetzt, während stärkere Erhitzung denselben wieder beseitigt."

Von Pepsin-Salzsäure (Pepsin und Salzsäure in je 1 prozent. Lösung) wurden die Bakterien gar nicht oder nur ganz wenig angegriffen; auch hier machten sich wieder Unterschiede zwischen gramfesten und gramfreien Bak-



terien bemerkbar. Die Auflösungserscheinungen bei Gegenwart von Salzsäure allein und von Kalilauge waren folgende. 1 Prozent Salzsäure übt keinen oder nur ganz geringen Einfluß auf die Bakterien aus, 10 Prozent einen wesentlich größeren bei Staphylococcus alb. und aur., Penicillium glaucum und Actinomyces, bei anderen wieder weniger. Der Erfolg war bei Anwendung von 25prozent. Salzsäure nicht größer: gramfeste und gramfreie Bakterien zeigten hier kein unterschiedliches Verhalten. Anders verhielt es sich mit der Einwirkung von 1 bis 10prozent. Kalilauge. In 10prozent. Lauge lösten sich alle Bakterien mehr oder weniger völlig auf; dagegen zeigten die gramfesten und -freien Bakterien gegen 1prozent. Kalilauge ein verschiedenes Verhalten: die gramfreien, vorher nicht erhitzt, wurden gelöst, die gramfesten wenig oder gar nicht. Wichtig ist das Verhalten der gramfreien Bakterien, wenn sie vorher auf 60 bis 100° oder nicht erhitzt waren: am schwächsten war die Auflösung der auf 100° vorher erhitzten Organismen, etwas stärker bei den auf 60° und am stärksten bei den nicht erhitzten. Bürgers, Schermann und Schreiber werfen hierbei die Frage auf, ob nicht diese Lösungserscheinungen bei 1prozent. Kalilauge auf die Wirkung von Fermenten zurückzuführen sei. Eine Entscheidung dieser Frage wird nicht gegeben.

An diese Versuche reihen sich die von Jobling und Petersen, welche mehrere Bakterienarten u. a. auf ihre Verdauung mittels Trypsins prüften; sie fanden, daß der Gehalt an „ungesättigten" Lipoiden (das sind Lipoide, welche einen mehr oder weniger hohen Gehalt an ungesättigten Fettsäuren aufweisen) dem Widerstande der Bakterien bei der tryptischen Verdauung proportional sei. Folgende Tabelle geben Jobling und Petersen zur Veranschaulichung des Gesagten:

| | Lipoidgehalt Proz. | Jodzahl Proz. | Verdauung Proz. |
|---|---|---|---|
| Diphtheriebazillen . . . . . | 7 | 80 | 18 |
| Staphylokokken . . . . . | 8 | 60 | 23 |
| Typhusbazillen . . . . . | 8 | 30 | 24 |
| Typhusbazillen, extrahiert . | — | — | 56 |
| Colibazillen . . . . . . . . | 4 | 40 | 40 |
| Tuberkelbazillen, extrahiert[1] . | 7 | 20 | 40 |

Die von mir mit gramfesten Bakterien angestellten Versuche waren im wesentlichen so angeordnet, wie die von Bürgers; es wurden Aufschwemmungen von frischen Agarkulturen in physiologischer Kochsalzlösung oder in destilliertem Wasser hergestellt, und von diesen Aufschwemmungen wurde je 1 ccm mit 1 ccm folgender wässeriger Flüssigkeiten vermischt: destilliertem Wasser, physiologischer Kochsalz-, Trypsin-, Pepsin-Salzsäure-Traubenzuckerlösung[2], Salzsäure und Kalilauge (je nach Bedarf Toluolzusatz). Die gleichmäßig stark getrübten Bakterienaufschwemmungen kamen in gut gereinigte, nicht

[1] Nacheinander mit Äther, Chloroform und Alkohol ausgesogen.

[2] Bei den Versuchen mit dieser Lösung fand ein Zusatz von 2 Tropfen Toluol statt.



sterilisierte Reagenzgläser, welche, durch Korkstopfen verschlossen, der Temperatur von 36°, in einigen Fällen bei 25° und bei Zimmertemperatur angesetzt wurden; Kontrollproben wurden bei 8° bzw. 0° gehalten. Die Trypsinlösung (unter Zusatz von wenig Soda hergestellt) war 1 Prozent, Pepsin wurde je 2 Prozent in 2 prozent. Salzsäure gelöst, Traubenzucker ebenfalls zu 2 Prozent. Der Gehalt an diesen gelösten Stoffen war bei den Versuchen selbst durch die vorgenommene Verdünnung auf die Hälfte herabgesetzt. Die Bakterienaufschwemmungen wurden nicht nur auf ihre Trübungsverhältnisse untersucht, sondern auch auf die Gramfärbung der abgeschiedenen Bakterien; außerdem prüften wir in einigen Fällen, wie sich Schrägagarkulturen, die bei Zimmertemperatur oder bei 36° mit oder ohne Zusatz von Toluol einige Tage aufbewahrt wurden, in ihrem Gramverhalten änderten. Von Bakterien wurden eingehender Aureus, Mycoides und Hefe untersucht, weniger eingehend Diphtherie, Pseudodiphtherie, Subtilis, Milzbrand (Kultur Nr. II, s. S. 257) und Actinomyces. Mit der Färbemethode wurde oftmals gewechselt, besonders bei Aureus, Mycoides und Hefe, wo neben der Tröpfelmethode (je 1 Minute und $^1/_2$ Minute tröpfeln und in 2 Fällen bei Aureus und Hefe, die je 1 Minute und 2 Minuten tröpfeln) vergleichsweise die sonst übliche (je 1 Minute ohne Tröpfeln) angewendet wurde; bei Diphtherie, Pseudodiphtherie und Milzbrand wurde nach Methode: je 1 Minute und $^1/_2$ Minute tröpfeln verfahren, bei Actinomyces nach Methode: je 1 Minute und $^1/_2$ Minute ohne Tröpfeln und bei Subtilis nach der üblichen (je 1 Minute ohne Tröpfeln).

Im folgenden wird an Stelle der weggelassenen Tabellen eine Übersicht über die Ergebnisse obiger Versuche gegeben.

### Aureus.

Vor allen gramfesten Bakterien zeigt Aureus die Eigentümlichkeit, unter den oben angegebenen Bedingungen nach Verlauf von mehreren Tagen teilweise oder sogar ganz in kolloidale Lösung zu gehen; Alkoholzusatz und darauf folgendes anhaltendes Zentrifugieren der opalisierenden Flüssigkeit hatte nur geringeren oder gar keinen Erfolg. Es zeigte sich hier, wie schon früher (s. S. 249), daß die mit physiologischer Kochsalz- und Pepsin-Salzsäurelösung erzielten Ergebnisse ein unklares, ja falsches Bild lieferten. Der einzige Weg, welcher in diesen Fällen zum Ziele führte, war, daß man bei der Entnahme der Proben dieselben ohne weitere Vorbehandlung sofort auf das Deckglas brachte und nach dem Trocknen an der Luft das Präparat mit etwas Wasser abspülte und dann erst färbte. Für die Versuche mit Kochsalz, Pepsin-Salzsäure und auch mit Salzsäure allein scheint diese Wasserspülung erforderlich zu sein; auch bei anderer Gelegenheit (s. S. 293) zeigte es sich, daß die Sicherheit der Gramfärbung mehr oder weniger leidet, wenn geringe Mengen von NaCl oder HCl dem Deckglaspräparate noch anhaften. — Die Wirkung von physiologischer Kochsalzlösung, Trypsin





und Pepsin-Salzsäure bei 36° läßt sich dahin zusammenfassen, daß Aureus nach 2 Tagen durch NaCl zum großen Teil in seiner Gramfestigkeit geschädigt wird; nach 4 Tagen wird der größte Teil der Kokken fast ganz gramfrei; nach 8 bis 13 Tagen sind sie ganz gramfrei. Der Einfluß durch Pepsin-Salzsäure ist schwächer und langsamer; noch nach 13 Tagen war der größere Teil der Kokken normal, ein kleinerer Teil abgeblaßt, jedoch ohne die Gegenfärbung von Rot oder Rosa zu zeigen. Es trat nur ein stärkeres Abblassen der Blaufärbung ein. Durch Trypsin wurde Aureus, selbst nach Verlauf von 13 Tagen, in seiner Gramfestigkeit so gut wie gar nicht geschädigt.

Die Auflösungserscheinungen von Aureus durch 3n- und 4n-Salzsäure bei 25° waren nach 2 bis 3 Tagen stärker als bei den Vergleichsproben im Wasser bei 8°; dies gibt sich auch in dem Ausfalle der Färbung kund. Die HCl-Probe war fast völlig gramfrei, die Wasserprobe von 8° gut gramfest.

Nach den bisherigen Ergebnissen dieser Arbeit dürfte es vielleicht auffallen, daß Pepsin-Salzsäure bei einer Temperatur von 36° nur einen so geringen Einfluß auf das Gramverhalten des Aureus ausübt, während doch sonst die Salzsäure bei 36° sich als ein vorzügliches Mittel erwiesen hat, Bakterien gramfrei zu machen. Aus den Versuchen anderer Forscher (wie Hamburger, Stern, Gregersen) ist zu folgern, daß die elektrolytische Dissoziation der Salzsäure durch den Gehalt an Pepsin so weit herabgesetzt wird, daß die H-Ionen nicht in Wirksamkeit treten können. — Bezüglich der Schrägagarkultur ist zu sagen, daß Aureus bei einer 4tägigen Aufbewahrung von 17° in seiner Gramfestigkeit merklich geschädigt wird und nach 11 Tagen fast gramfrei geworden ist, eine Beobachtung, die schon früher von Bakteriologen an alten Kulturen gemacht worden ist.

## Mycoides.

Sein Verhalten gegen Kochsalz, Trypsin und Pepsin-Salzsäure bei 36° gleicht dem von Aureus. Nur von physiologischer Kochsalzlösung wird Mycoides in seiner Gramfestigkeit erheblich beeinflußt: nach 4 Tagen ist etwa die Hälfte der Stäbchen gramfrei (Rosafärbung) geworden. Ob bei längerer Dauer der Einwirkung von Kochsalz eine Zunahme der Umwandlung stattfindet, konnte mit Sicherheit noch nicht festgestellt werden. Trypsin und Pepsin-Salzsäure sind bei einer Dauer von 4 Tagen ohne nennenswerten Einfluß; nach 13 Tagen wirkte aber auch Pepsin-Salzsäure schädigend auf die Gramfestigkeit ein: die kleinere Hälfte bestand aus rosa gefärbten und farblosen Stäbchen. — Die Löslichkeit von Mycoides ist in Kalilauge (1 Prozent = 0·18n) bei 36° größer als in der stärker konzentrierten Salzsäure (4n und 2n), wie schon Bürgers, Schermann



und Schreiber fanden. Mit 1 prozent. Kalilauge tritt, wenn man wenig Bakterienmaterial nimmt, nach 1 Tage sogar eine völlige Lösung ein; sie ist als eine kolloidale Lösung anzusehen, da nach Ansäuerung derselben mit verdünnter Salzsäure die Stäbchen mittels Zentrifugierens abgeschieden werden konnten, und hierbei die Stäbchen ihre charakteristische Form zeigten. Im Gegensatz dazu steht das Verhalten der Stäbchen gegen Salzsäure (2n und 4n) bei 36°; sie verlieren nach 5 bis 6 Tagen ihre Gestalt und ballen sich zu formlosen, gramfreien Häufchen zusammen.[1] Die Gramfärbung des Mycoides wird auch durch 1 prozent. KOH bei 36° nach dieser Zeit (6 Tage) gleichfalls stark herabgedrückt: nur ein kleiner Teil der Stäbchen ist noch normal geblieben, der größere Teil ist farbschwächer oder rosa gefärbt; bemerkenswert ist, daß hierbei oftmals ein teilweises Herauslösen der Gramfarbe zu farblosen Stellen einsetzt.

Bezüglich der Schrägagarkulturen bei längerer Aufbewahrung lassen sich ähnliche Übergänge der Stäbchen bis zur Gramfreiheit wie beim Aureus beobachten. Die Umwandlung bei 17° vollzieht sich langsamer als beim Aureus; ob das jedoch immer zutrifft, wäre noch zu untersuchen. Daß bei höherer Temperatur, bei 36°, dieser Vorgang schneller verläuft, nimmt nach allem bisher Gesagten nicht wunder. Aufgelöste Stäbchen oder in Auflösung begriffene sind immer mehr oder weniger gramfrei. In der Versuchsreihe, wo Agarkulturen 6 Tage bei 36° gehalten wurden, macht sich der Zusatz von Toluol zur Kultur in der Weise geltend, daß die Gramfarbe nur stellenweise im Innern der Stäbchen erhalten bleibt, dafür tritt teils Entfärbung, teils Rotfärbung ein.

## Hefe.

Die Verdauungsversuche mit Kochsalz, Trypsin, Pepsin, destilliertem Wasser, Traubenzucker (bei 36°) lassen eine größere Widerstandskraft der Hefe im Vergleiche zu Aureus und Mycoides erkennen, wenn man den Ausfall der Gramreaktion als Maßstab anlegt. Pepsin-Salzsäure und dest. Wasser (bei 36°) scheinen bei einer Einwirkungsdauer von etwa 13 bzw. 8 Tagen ein wenig mehr einzuwirken als die anderen Flüssigkeiten; es mußte auffallen, daß 1 prozentiger Traubenzucker bei 36° ohne erheblichen Einfluß auf die Färbbarkeit der Hefezellen nach Gram war, während R. und W. Albert durch Versuche festgestellt haben, daß sogenannte Dauerhefe (Näheres s. S. 309), welche sich durchaus gramfest verhält, durch 20 prozentige Rohrzuckerlösung bei Zimmertemperatur schon nach

[1] Bei der Entnahme der Proben wurde die Salzsäure mit etwas NaOH abgestumpft, und die Flüssigkeit, noch sauer reagierend, zentrifugiert.





wenigen Stunden zu einem gewissen Prozentsatze in ihrer Gramfestigkeit geschädigt und nach Verlauf von 3 Tagen bereits fast völlig gramfrei wurde; die Membran war schlecht färbbar (mit Safranin), die kernartigen Gebilde färbten sich gut rot. Ebenso wie gegen Rohrzucker verhält sich Dauerhefe nach Albert in einer Aufschwemmung mit destilliertem Wasser bei einer Temperatur von 40 bis 45°; kleine Zusätze (Tropfen) Toluol, Thymol, Chloroform änderten nichts an dem Bilde; dagegen wirkten Formaldehyd, Sublimat in der Weise, daß der geschilderte Farbübergang von Schwarzblau zu Blaßrot bei den Hefezellen ausblieb. R. u. W. Albert führen das Eintreten dieser Farberscheinungen auf proteolytische Enzyme (das Endotrypsin von Hahn und Geret) in der Dauerhefe zurück; sie nehmen an, daß bei den genannten Vorgängen mit Rohrzucker bzw. mit Wasser von 40 bis 45° Eiweißkörper teils als solche, teils nach stattgefundener Hydrolyse durch die Hefenmembran diffundieren. Die Gramfestigkeit der Dauerhefe vor der Behandlung rühre von einem Gehalte an gramfärbbaren Eiweißstoffen her.

Zur Nachprüfung der Albertschen Versuche wurde Dauerhefe in kleinen Mengen (etwa 5 g) aus frischer Bäckereipreßhefe nach den Angaben von Albert, Buchner und Rapp mittels Azetons hergestellt. Die von mir gewonnene Dauerhefe zeigte bei 23 bis 25° und bei einem geringen Zusatze von Toluol Gärtätigkeit, welche ich bei entsprechender Versuchsanordnung durch Barytlösung nachwies. Eine Nickelspatelspitze von der Dauerhefe wurde mit etwa 5 ccm 20 prozent. Traubenzuckerlösung unter Zusatz von 3 Tropfen Toluol bei 23 bis 25° in einem Reagenzglase zusammengebracht, welches durch einen mit offener Glaskapillare versehenen Korken verschlossen wurde. Eine sofortige Probe dieser so zubereiteten Mischung ergab folgendes mikroskopische Bild[1]: Färbung normal = gramfest, etwa 5 bis 10 Prozent rote und in Auflösung begriffene Zellen, außerdem, wie schon öfters in diesen Kriegsjahren (2. und besonders 3. Jahre) beobachtet, gramfeste kurze Stäbchen überall eingestreut. Diese Hefeaufschwemmung, welche jeden Tag einmal gut und ausgiebig durchgeschüttelt wurde, blieb 5 Tage bei 23 bis 25° stehen. Ein Durchschütteln des Hefematerials ist bei der Entnahme der Probe angebracht, um ein gleichmäßiges und zuverlässiges Durchschnittsmuster für die Gramfärbung zu erhalten. Weder nach 1 Tage noch nach 5 Tagen war es möglich, eine merkliche Abnahme der Gramfestigkeit der Dauerhefe festzustellen; es hat den Anschein, als ob Zellen, welche von vornherein mehr oder weniger gramfrei waren, bei der Behandlung mit der Traubenzuckerlösung der Auflösung allmählich anheimfallen.

[1] Die Proben bei diesen Versuchen wurden ohne weitere Vorbehandlung auf das Deckglas gebracht und an der Luft angetrocknet; diese Behandlung änderte nichts an dem färberischen Erfolge.



Die Färbungsversuche bewiesen, daß die Dauerhefe sowohl nach 1tägiger als auch nach 5tägiger Einwirkung von Traubenzucker bei 23 bis 25° so gut wie ganz gramfest bleibt; das gleiche Ergebnis erhält man bei Anwendung einer 20prozentigen Rohrzuckerlösung unter Zusatz von 2 Tropfen Toluol bei etwa 22°; hier traten sichtbare Übergänge zur Gramfreiheit erst nach 6 Tagen ein. R. und W. Albert sind, wie erwähnt, bei diesen Gärversuchen zu einem entgegengesetzten Ergebnisse gelangt. Die Albertsche Beobachtung steht mit der bekannten Tatsache in Widerspruch, daß das Material für untergärige Hefe allgemein durch einen Gärprozeß zuckerhaltiger und zuckerliefernder Substanzen gewonnen wird und in frischer Beschaffenheit sich durchaus gramfest verhält.

Was die Trübungsverhältnisse bei den Aufschwemmungen mit Kochsalz, Trypsin und Pepsin-Salzsäure bei 36° noch anlangt, so ist zu erwähnen, daß die Kochsalzaufschwemmung nach 6 und 13 Tagen am hellsten war, Zellen noch ziemlich gut gramfest; desgleichen war (in einer anderen Versuchsreihe bei 36°) die Mischung mit 1prozentigem Traubenzucker heller als die mit destilliertem Wasser allein angesetzte.

Die Versuche mit Diphtheriebazillen bis zu denen mit Actinomyces bestätigen wiederum die Beobachtung von Bürgers über das Verhalten gramfester Bakterien gegen Salzsäure und Kalilauge. Auch hier tritt mitunter die Erscheinung auf, daß 0·18n-KOH eine größere lösende Kraft entfaltet als n/1-HCl, so bei Pseudodiphtherie und Actinomyces. Dies trifft aber nur zu bei einer Einwirkungsdauer von 3 Tagen bei Pseudodiphtherie und von 24 Stunden bei Actinomyces. Nach Verlauf von 4 Tagen sind die HCl- und KOH-Proben von Pseudodiphtherie wieder gleich stark trübe, desgleichen bei Actinomyces nach 5 Tagen. Hier dürften gewisse Löslichkeitsverhältnisse eine Rolle spielen.

Im einzelnen ist noch folgendes hervorzuheben.

Während n/1-Salzsäure bei 36° die Diphtheriebazillen nach ungefähr 7 Tagen gramfrei macht, sind bei der 0·18 n-Kalilauge (nach Ansäuern der Probe) nach 9 Tagen nur geringfügige Anfänge von Rosafärbung zu bemerken, auch nach 12 Tagen ist erst eine schwache Umwandlung insofern eingetreten, als bei einer kleinen Menge der Stäbchen ein teilweises Herauslösen der Gramfarbe stattfindet. Bei Milzbrand ist bemerkenswert, daß sowohl 2n-Salzsäure (7·3 Prozent) als 0·18 n-Kalilauge (1 Prozent) nur wenig lösend wirken.[1]

[1] Es möge noch auf den Einfluß der geänderten Färbemethode ($\alpha$-, $\beta$- und $\gamma$-Färbung) hingewiesen werden; es zeigt sich auch hier wie auf S. 240, daß die Tröpfelmethode in vielen Fällen ein zutreffenderes und klareres Bild liefert als die, den Alkohol ½ bis 1 Minute auf dem Deckglase zu belassen.

Bei den einleitenden Bemerkungen zu diesem Kapitel wurde aus der Arbeit Joblings und Petersens eine Tabelle angeführt über die Beziehungen der Jodzahl von Bakterien zu ihrer Verdauung durch Trypsin (vgl. auch die Tabelle über den Lipoidgehalt und Jodzahl, S. 272). Auf Grund ihrer Versuche kommen sie zu dem Schlusse, daß die Größe des Gehaltes an ungesättigten Lipoiden dem Widerstand der Bakterien (durch Trypsin) proportional sei; sie suchen diese Beobachtung auch dadurch zu bekräftigen, daß sie Tuberkelbazillen sowohl in getrockneter Form als auch nach energischer Extraktion mit organischen Lösungsmitteln der Trypsinverdauung aussetzten Die Jobling-Petersensche Tabelle über die Ergebnisse dieser Versuche möge auch noch wiedergegeben werden:

| 1 ccm Aufschwemmung von Tuberkelbazillen | Lipoidgehalt Proz. | N-Verdauung mg | Proz. |
|---|---|---|---|
| Getrocknet . . . . . . . . . . | 31·2 | 0·13 | 23 |
| Extrahiert durch Äther, Chloroform und Alkohol . . . . . . . . | 9 | 0·33 | 44 |
| Extrahiert im Soxleth mit Äther 120 Stdn., Alkohol 100 Stdn., Benzol 50 Stdn. . . . . . . | 7 | 0·46 | 57 |

Durch die langandauernde Extraktion mit Äther, Alkohol und Benzol (im ganzen 270 Stunden lang) steigt die Prozentzahl für die Verdauung auf 57. Nun habe ich auf S. 264 u. ff. gezeigt, daß Hefe, Mycoides und Aureus durch Erhitzen mit Alkohol in ihrer Gramfestigkeit geschädigt werden: je länger die Behandlung mit Alkohol und je höher die hierbei angewandte Temperatur ist, desto gramfreier werden die Bakterien und desto mehr schwindet die charakteristische Form der Bakterien. In ihrer Arbeit machen Jobling und Petersen selbst die Bemerkung, daß durch einfache Soxlethextraktion keine ausreichende Spaltung der Proteinlipoide eintritt. Es fällt darum auf, daß sie den geringeren Widerstand der extrahierten Bakterien bei der Trypsinverdauung einzig und allein auf den geringeren Gehalt an ungesättigten Lipoiden zurückführen. Nach meinen Versuchen zu schließen, setzt durch die langandauernde Behandlung mit Alkohol eine chemische Umwandlung der Zellinhaltsstoffe ein, welche mit oder ganz allein zur Erklärung der durch die Extraktion geschwächten Widerstandskraft der Bakterien gegen die tryptische Verdauung herangezogen werden dürfte.

---

Den Lipoiden wird von mehreren Seiten eine Bedeutung für die Gramfestigkeit von Bakterien zugeschrieben. Sieht man den Lipoidgehalt gramfester und -freier Bakterien durch, so scheint diese Annahme wenig Berechtigung zu haben. Folgende Literaturangaben stehen uns zu Gebote, die von Jobling und Petersen und die von Nicolle und Alilaire:



| | | Jobling-Petersen | Nicolle-Alilaire | |
|---|---|---|---|---|
| | | Lipoidgehalt in Prozenten | Azeton-Extrakt in Prozenten Trockensubst. | Chloroform-Extrakt in Proz. Trockensubst. |
| gramfest | Tuberkelbazillen . | 32·7 | — | — |
| | Staphylokokken . | 4·5—8·5 | — | — |
| | Diphtheriebazillen | 5·5—7·5 | 7 | 5·2 |
| | Subtilisbazillen . | 1·7 | — | — |
| | Hefe (Frohberg) | | 4·2 | 2·9 |
| gramfrei | Typhusbazillen . . | 7·0—8·2 | 15·4 | 10·6 |
| | Colibazillen . . . | 4·2—8·2 | 15·2 | 11·8 |

Die Gramfestigkeit der Bakterien von dem Lipoidgehalt (oder von der Größe des Chloroformextrakts) abhängig zu machen, ist nach diesen Werten nicht zulässig. Ein anderer Gedanke hätte hier scheinbar mehr Berechtigung und zwar betrifft er die Jodzahl der aus den Bakterien abgeschiedenen Lipoide, wobei ich es noch unentschieden lassen will, ob diese abgeschiedenen Lipoide mit den in den Bakterien vorkommenden wirklich in ihrer Zusammensetzung übereinstimmen.

Bekanntlich ermittelt man die Jodzahl von Fetten in der Weise, daß die Chloroformlösung mit überschüssiger alkoholischer Jod- und Quecksilberchloridlösung versetzt wird, worauf nach Zugabe von Jodkalium das nicht umgesetzte Jod mit n/10-Thiosulfatlösung titriert wird. Auch bei der Gramreaktion spielt der Zusatz von Jodjodkalium eine wichtige Rolle. Man konnte von Haus aus wohl annehmen, daß das Jod der Lugolschen Lösung beim Färbeprozesse auch die Äthylenbindungen des ungesättigten Fettsäureradikals im Lipoid jodieren würde. Bekannt ist es ja, daß aus Bakterienleibern Fettsäuren vom Ölsäuretypus abgeschieden werden können. Jobling und Petersen haben nun die Jodzahl von Lipoiden mehrerer Bakterien zu bestimmen versucht; die gefundenen Werte sind im folgenden zusammengestellt:

| | | Jodzahl |
|---|---|---|
| gramfest | Tuberkelbazillen . . . | 20 |
| | Staphylokokken . . . | 60—91 |
| | Diphtheriebazillen . . | 80—100 |
| | Subtilisbazillen . . . . | 40 (?) |
| | Tetanusbazillen . . . | 44 (?) |
| gramfrei | Typhusbazillen . . . | 30—38 |
| | Colibazillen . . . . . | 32—40 |

Unter der Annahme, daß die von Jobling und Petersen mit einem Fragezeichen versehenen Werte von Subtilis und Tetanus den wahren Verhältnissen nahekommen, muß man doch zugeben, daß die Jodzahl kein rechtes Unterscheidungsmerkmal für gramfeste und -freie Bakterien abgibt. Die Werte für Subtilis und Tetanus, insbesondere für den Tuberkelbacillus sind zu niedrig im Vergleich zu denen des gramfreien Typhus- und Colibacillus.



## 2. Bulgaricus.

Eine bekannte Erfahrung lehrt, daß gramfeste Bakterien in älteren Kulturen zu einem mehr oder weniger großen Teile ihre Gramfestigkeit einbüßen; im besonderen Maße zeigt diese Eigentümlichkeit der Joghurtbacillus.

Vorversuche mit Material von Kulturen in Milch bei 37 bis 40° ergaben, daß dasselbe nach 1 bis 2 Tagen noch verhältnismäßig gut gramfest war, daß aber nach 3 Tagen die Gramfestigkeit immer mehr abnahm, falls die Kultur dauernd bei einer Temperatur von 37° gehalten wurde. Nach 5 und mehr Tagen wurden die Bazillen zum größten Teile gramfrei: sie ließen sich mit Fuchsin blaßrot und rot färben. Da sich, wie bekannt bei diesen Kulturen, in Milch bis zu etwa 1·5 Prozent Milchsäure bildet, so lag ja die Vermutung nahe, daß die Bildung dieser Säure und der Rückgang der Gramfestigkeit in einem ursächlichen Zusammenhange miteinander stehen könnten.

Die Schwierigkeit, die für solche Versuche hinreichenden Mengen reinen Materials zu erhalten, konnte leicht behoben werden, da nach dankenswerter Privatmitteilung von Herrn Prof. Dr. Burian der Joghurtbacillus auch in einer mit Traubenzucker versetzten Hefeabkochung ein ganz gutes Wachstum zeigt. Hefeabkochung ist, wie bekannt, in den letzten Jahren als brauchbare Nährlösung für Bakterienkulturen empfohlen und auch mit Erfolg benützt worden. Sie wurde in folgender Weise bereitet: 20 g Bäckereipreßhefe, mit 100 g Wasser 7 Minuten lang zum Kochen erhitzt, läßt man etwas absetzen, filtriert, füllt auf etwa 100 ccm mit Wasser auf, zentrifugiert, löst 7 g Traubenzucker darin auf, füllt diese Hefe-Traubenzuckerlösung in Reagenzgläser und sterilisiert sie etwa $^1/_2$ Stunde in siedendem Wasserbade; Kontrollproben, bei $36^1/_2$ und 40° gehalten, bewiesen die Sterilität dieser Hefelösungen. Das Bakterienmaterial stammte aus dem Institut für Gärungsgewerbe in Berlin und wurde 2 Tage nach Empfang auf seine Gramfärbbarkeit geprüft; Färbemethode war, wie in allen Fällen: je 1 Minute und $^1/_4$ Minute 12 Tropfen Alkohol tröpfeln. Das Berliner Material wurde ohne Vorbehandlung gefärbt. Der Bacillus zeigte sich hierbei in Form von kleinen dunkelblauen und schwarzblauen kurzen Stäbchen, welche auf zartem und dickerem eiweißartigen Gerinnsel von roter und bläulicher Farbe gelagert waren; rosa gefärbte Stäbchen waren nur vereinzelt sichtbar.

Nach den Kulturversuchen in Hefe-Traubenzuckerlösung zu urteilen, ist die Temperatur von 37 bis 40° bei einer Dauer von 1 bis $1^1/_2$ Tagen die für das Wachstum des Bulgaricus günstigste; bei der Temperatur von 45° zeigt er gleichfalls ein gutes Wachstum. Doch hat es den Anschein, als ob die höhere Temperatur bei einer Dauer von 24 Stunden und länger die Gramfestigkeit des Bacillus schädigt. Zur Veranschaulichung des Gesagten möge das Ergebnis zweier Kulturversuche mitgeteilt werden.



Kulturprobe I, 24 Stunden bei 45° in Hefe-Zuckerlösung gezüchtet (zentrifugiert und nicht zentrifugiert) = größtenteils gramfest bis ziemlich gramfest, kleinerer Teil rosa nebst Übergängen, Bulgar. in längeren und kürzeren Fäden.

,, II, 3 Stunden bei 40° und 16 Stunden bei 36½° in Hefe-Zuckerlösung gezüchtet (zentrifugiert) = gut normal, am Rande vereinzelt kurze rosa gefärbte Stäbchen, alles Übrige jedoch aus Fäden bestehend.

Für die folgenden Versuche wurde Bakterienmaterial von Hefenährlösungen, die bei 36½ bis 40° gehalten wurden, nach einmaligem Zentrifugieren benützt und zwar in Form von Aufschwemmungen in Reagenzgläsern; die Temperatur betrug hierbei 36½°, nur in einem Falle 23°. Zur Verwendung gelangten: Salzsäure (0·27 n = 1 Prozent), Kalilauge (0·18 n = 1 Prozent, i-Milchsäure (2 n = 18 Prozent und 0·17 n = 1·5 Prozent). Bei der Entnahme von Proben wurden diese nach entsprechender Neutralisation mit Soda- oder Säurelösung (Salz- oder Essigsäure) zweimal zentrifugiert.

Durch 1 prozentige Salzsäure wird unter den angegebenen Versuchsbedingungen Bulgaricus nach etwa 2 Tagen fast ganz gramfrei, durch 1 prozentige Kalilauge nach etwa 2 Tagen zur Hälfte gramfrei; nach 8tägiger Laugenwirkung wird die Umwandlung vollständig. Die wenigen eingestreuten Hefezellen (aus der Hefe-Traubenzuckerlösung stammend) zeigen ein analoges Verhalten. — Bei den Versuchen mit Milchsäure sind Unregelmäßigkeiten zu verzeichnen, die der Aufklärung noch bedürfen. Wie bei Aureus und Hefe (s. S. 247 u. 250), wirkt auch 2 n-Milchsäure (18prozent.) auf die Gramfestigkeit des Bulgaricus kaum ein, erst bei der Dauer von 15 bis 22 Tagen (bei 36½° und 23°) schreitet die Umwandlung stärker vorwärts. Die eingestreuten Hefezellen werden gleichfalls nur langsam umgewandelt. Ganz anders verhält sich nun Bulgaricus gegen die verdünntere 1·5 prozentige Milchsäure; schon nach 3 bis 4 Tagen (Temperatur 36°) waren die Fäden und Stäbchen fast oder ganz gramfrei. Ebenso gingen die eingestreuten Hefezellen ihrer Gramfestigkeit verlustig. Das Verhalten von Bulgaricus und Hefe gegen Milchsäure ist auch im Hinblick auf die Versuche von Aureus mit der gleichen Säure (vgl. S. 247 und 250) bemerkenswert, die Kokken wurden, wie dort angegeben, in ihrer Gramfestigkeit nicht geschwächt, obwohl sie in dem einen Falle 3 Tage einer 10prozentigen Milchsäure bei 36° und in dem anderen Falle sogar 34 Tage einer 4·5prozentigen Milchsäure bei 20 bis 25° ausgesetzt waren. Dies auffallende Verhalten der Milchsäure veranlaßte mich, die für Bulgaricus benutzten Lösungen von 1·5 und 18 Prozent und desgleichen frisch hergestellte von der gleichen Konzentration auf ihr Inversionsvermögen gegenüber 20 prozentigen Rohrzuckerlösungen bei 23 bei 25° zu prüfen, um vielleicht Anhaltspunkte für ein solch



verschiedenartiges Verhalten zu gewinnen. Die Bestimmung der Inversions konstante:[1]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| k × 10000[2] ergab: für die 1·5 prozent. Lösung | 0·37 | alte | 0·31 | frische |
| „ „ 18 „ „ | 1·5 | Lösung | 1·11 | Lösung |

Die Inversion des Rohrzuckers durch die 1·5 und 18prozentige Milchsäure vollzieht sich im Sinne der Dissoziationstheorie: die Inversionskonstante der 18prozentigen Säure ist etwa viermal größer als die der 1·5prozentigen, mit anderen Worten: die stärker konzentrierte Säure invertiert Rohrzucker unter gleichen Bedingungen viermal schneller als die schwächer konzentrierte. Die Werte für die frisch dargestellte Säure sind im Vergleiche zu der alten etwas niedriger, wieweit dies zutrifft, könnten erst genauere Versuche lehren. Auf jeden Fall lassen sich die Unterschiede, welche sich bei der Einwirkung von Milchsäurelösungen auf Aureus, Hefe und Bulgaricus ergeben haben, nicht durch die Ionenlehre erklären. Hingegen scheinen namentlich die Ergebnisse der Kochsalzversuche bei Aureus, Hefe und Mycoides dafür zu sprechen, daß Selbstverdauungserscheinungen eine Rolle spielen; es war deshalb nötig, solche Versuche mit Bulgaricus anzustellen.

Für die Verdauungsversuche wurden Bulgaricuskulturen in der Hefe-Traubenzuckerlösung bei Temperaturen von $36^1/_2$ bis 40° mit und ohne Zusatz von wenig Toluol, sonst ohne weitere Vorbehandlung sich selbst überlassen, in einem Falle wurde zentrifugiertes Material mit physiologischer Kochsalzlösung bei $36^1/_2$° unter Zusatz von wenig Toluol in verschlossenem Reagenzglase angesetzt. Das Ergebnis war, daß Bulgaricus bei allen Proben nach Verlauf von 3 bis 4 Tagen fast völlig oder ganz gramfrei wurde, während die eingestreuten Hefezellen kaum von ihrer Gramfestigkeit etwas eingebüßt hatten, bei Bulgaricus machte sich hierbei eine blasse Gegenfärbung mit Fuchsin bemerkbar.

Demnach wird Bulgaricus bei Selbstverdauung, bei Behandlung mit physiologischer Kochsalzlösung, durch verdünnte Säuren und Kalilauge (1 bis 2 prozent.) gramfrei. Stärker konzentriete Milchsäure (18 prozent., auch 9 prozent.) bringt unter den gleichen Bedingungen diese Wirkung nicht hervor. Es liegt hier die Annahme nahe, daß an der Umwandlung

---

[1] annähernd genau durchgeführte

[2] Berechnet nach der Formel

$$k = \frac{2(w_m - w_n)}{[(w_m - W) + (w_n - W)](t_n - t_m)};$$

vgl. Ostwald-Luthers *Hand- und Hilfsbuch f. phys.-chem. Messungen.* Die alten und die frischen Säurelösungen waren den gleichen Temperaturschwankungen von 23 bis 25° unterworfen.



des gramfesten Bulgaricus in gramfreien durch verdünnte Säuren und Alkali Endoenzyme mit beteiligt seien, welche durch stärker konzentrierte Milchsäurelösungen in ihrer Wirksamkeit geschädigt würden.

Immerhin ist es erforderlich, die Einwirkung von Milchsäurelösungen auf Kleinwesen unter den in dieser Arbeit angegebenen Bedingungen und Vorsichtsmaßregeln näher zu prüfen und diese Untersuchungen auch auf andere Oxysäuren auszudehnen.

Aus dem Bisherigen ergibt sich mit ziemlicher Sicherheit, daß die öfters beobachtete mangelhafte Gramfärbbarkeit des Bulgaricus auf eine beginnende Umwandlung der für die Färbung maßgebenden Inhaltsstoffe (nukleinartiger Verbindungen) zurückzuführen ist, wahrscheinlich die Folge eines wenig günstigen Kulturverfahrens, wobei Bildung von geringen Mengen Milchsäure auch eine Rolle spielen dürfte. Nach den gemachten Beobachtungen müssen völlig gramfreie Bulgaricusindividuen als entwicklungsunfähig bezeichnet werden.

## Über die Gramfärbung von Fetten.

Nach den Versuchen von Jobling und Petersen schien es nicht uninteressant zu sein, die Gramfärbung an einigen Fetten selbst zu prüfen; es mußte sich da zeigen, ob ein größerer oder geringerer Gehalt an ungesättigten Fettsäuren einen Einfluß auf die Gramfärbung auszuüben imstande ist.

Bei diesen Versuchen kam es in erster Linie darauf an, Fette in möglichst feiner Verteilung zu untersuchen. Von den Fetten selbst wurden diejenigen berücksichtigt, welche sich durch eine hohe und durch eine niedrige Jodzahl auszeichnen: Leinöl mit einer Jodzahl von 170 bis 202, Hammeltalg von 33 bis 46 und Lanolin von 20 bis 21. Außerdem wurden noch geprüft die ungesättigte Ölsäure und die gesättigte Stearinsäure.

Die genannten Verbindungen wurden durch Gummi arabicum und Wasser in der bekannten Weise emulgiert; bei den festen und halbfesten Fettstoffen ist es angebracht, die Emulgierung in einem vorher erwärmten Mörser vorzunehmen. Zur Bereitung einiger Emulsionen wurde auch etwas Hühnereiweißlösung benützt, um die Öltröpfchen besser haftend auf dem Deckglas zu machen. Von den Emulsionen wurden Deckglaspräparate angefertigt, welche nach dem Trocknen an der Luft teils ohne Fixierung, teils mit Fixierung in der bakteriologisch üblichen Weise zur mikroskopischen Untersuchung gelangten. In der Regel wurde wie folgt gefärbt: je 2 Minuten Gentiana- und Lugolsche Lösung, bis $^1/_2$ Minute 80 bis 97 Prozent Alkohol (ohne Tröpfeln) und darauf Fuchsinlösung. Die feine Verteilung der emulgierten Fette wurde im hängenden Tropfen geprüft; die Teilchengröße war, abgesehen von unvermeidlichen größeren Partikelchen, eine zweckentsprechende und für den Vergleich mit Bakterien ausreichende.



Aus den Versuchen ergibt sich, daß die Färbungen bei Leinöl, Hammeltalg und Lanolin zum größeren Teile als gramfrei zu bezeichnen sind. Das Schwankende liegt wohl an der fettartigen Beschaffenheit dieser Stoffe, welche die Farbwirkung nicht sicher hervortreten läßt. Durch zahlreiche andere, hier nicht mitgeteilten Versuche sind wir zur Überzeugung gelangt, daß den Fetten Leinöl, Hammeltalg, Lanolin, auch der Ölsäure ein gramfestes Verhalten nicht zugeschrieben werden kann; die Annahme, daß eine hohe Jodzahl des Lipoids für das Zustandekommen der Gramreaktion maßgebend sei, hat durch die obigen Versuche keine Stütze erhalten.

Aus allem, was die Versuche bis jetzt ergeben haben, kann geschlossen werden, daß die chemische Zusammensetzung des Bakterienleibes es ist, welche die Gramfärbung bedingt. Die in Betracht kommende Substanz ist ohne Zweifel organischer Natur und muß der Reihe der organisch-chemischen Verbindungen angehören. Der Gedanke war naheliegend, die große Klasse von Eiweißstoffen für unsere Untersuchung heranzuziehen, die darauf hinzielte zu prüfen, ob es unter diesen gramfeste und gramfreie Verbindungen gibt. Ähnliche Untersuchungen sind wohl schon früher ausgeführt worden, und am gründlichsten geschah dies durch A. Fischer und zwar nach Gesichtspunkten, welche später besprochen werden sollen. Jedoch wurde von diesem Forscher die Gramreaktion in ganz geringem Umfange für seine Färbungsversuche herangezogen. Aus diesen und anderen Gründen machte es sich erforderlich, verschiedene eiweißähnliche und eiweißartige Verbindungen und Organteile auf ihr Gramverhalten zu prüfen und im Anschlusse daran die nach der Fischerschen Methode gewonnenen Granula dem gleichen Färbungsverfahren zu unterwerfen. Zur gründlichen Prüfung dieser Fragen war es nach den bis jetzt in vorliegender Arbeit gemachten Erfahrungen angebracht, nicht bloß Material in ursprünglicher Form, also nicht vorbehandeltes, nach Gram zu färben, sondern auch solches, das einer Vorbehandlung mit Säure, Alkali oder heißem Wasser unterworfen wurde. Diesen Untersuchungen sind die folgenden Abschnitte gewidmet.

## Gramfärbung von Eiweiß, eiweißartigen und anderen Stoffen (Eiweiß, Pepton, Kasein, Schalenhaut des Hühnereies, Horn, Nuklein, Nukleinsäure, Bolus, Kieselgur, Quarzsand, Lezithin, Zungenepithelien); Chromatfällungen nach A. Fischer.

Zur Versuchsanordnung ist folgendes anzuführen.

Für die mikroskopische Untersuchung wurden die Präparate auf Deckgläser gebracht und an der Luft getrocknet, falls nichts anderes angegeben ist; feste Stoffe wurden mit wenig Wasser im Mörser oder im Uhrgläschen verrieben und auf dem Deckglase verteilt. Die Chromatniederschläge nach



A. Fischer brachte man noch feucht auf Deckgläser, trocknete sie an der Luft an, wusch in fließendem Wasser 15 Sekunden lang aus und trocknete sie wieder an der Luft. Im übrigen wurden diese Chromatfällungen, wenn irgend möglich, genau nach den Angaben Fischers (in Petrischalen usw.) vorgenommen. In einigen Fällen wurden zur feineren Verteilung des Materials Bolus alba und gut gewaschener Sand benutzt: Bolus reinigten wir durch einen Schlämmprozeß von den gröberen Partikelchen. Kasein lösten wir unter Zuhilfenahme von wenig Soda in destilliertem Wasser und machten dann die Lösung schwach essigsauer. Die Schalenhaut wurde frischen Hühnereiern entnommen und durch einfaches Abziehen von der Eischale in wenig Wasser gelöst. Das Hornmaterial erhielten wir durch gelindes Abschaben vom Fingernagel, nur die feineren Anteile wurden bei den Versuchen berücksichtigt. Das Dihydrolezithin, ein aus Holzgeist kristallinisch sich ausscheidendes Präparat, verdanke ich dem Entgegenkommen von Herrn Geh. Rat Paal. Die Epithelien wurden durch gelindes Abschaben der Zunge gewonnen. Bei der Behandlung der Epithelien mit Salzsäure und mit Kalilauge wurde mit der Probeentnahme folgendermaßen verfahren. Die HCl-Proben zentrifugierte man durch einfaches Verdünnen mit destilliertem Wasser, die KOH-haltige erst nach Ansäuerung mit verdünnter Salzsäure. Im übrigen schloß sich die Versuchsanordnung der früher geschilderten an. An Stelle der weggelassenen umfangreichen Tabelle sind folgende Angaben einzuschalten.

### Eiweiß (Albumen ovi sicc.).

Angewandte Färbemethode: je 1 bis 2 Minuten und $^1/_4$ bis 1 Minute 80 bis 97 prozent. Alkohol ohne Tröpfeln, 1 bis 2 Minuten und $^1/_2$ Minute tröpfeln.

Die Eiweißchromatfällungen nach A. Fischer wurden in 5 prozent. Lösungen mit 2·5 prozent. Kaliumdichromatlösung (doppeltes Volum.) und etwas Eisessig vorgenommen.

### Pepton Witte.

Färbemethode: je 1 bis 3 Minuten und 1 bis 2 Minuten ohne Tröpfeln, 1 bis 3 Minuten und $^1/_2$ Minute tröpfeln (20 Tropfen).

Pepton wurde sowohl in 40 prozent. als auch in 5 prozent. Lösungen (s. weiter unter!) mit dem doppelten Volumen 2·5 prozent. Dichromatlösung unter Zusatz von etwas Eisessig gefällt, und die entstandene Fällung in der bekannten Weise weiter behandelt.

### Kasein.

Färbemethode: je 2 Minuten und 1 Minute ohne Tröpfeln.

Benutzt wurde eine schwach essigsaure Lösung, von der 8 ccm mit 9 ccm 2·5 prozent. Dichromatlösung unter Zusatz von wenig 20 prozent. Essigsäure versetzt wurden.

### Schalenhaut des Hühnereies.

Färbemethode: je 1 bis 2 Minuten und $^1/_4$ bis $^1/_2$ Minute 80 bis 97 proz. Alkohol ohne Tröpfeln.



Präparat wurde durch Zerreiben nach Zusatz von wenig Wasser im Achatmörser feinstens verteilt.

### Horn.

Färbemethode: je 1 bis 2 Minuten und $^1/_4$ bis $^1/_2$ Minute 80 bis 97 proz. Alkohol ohne Tröpfeln.

Über die Behandlung des Materials mit 25 prozent. Salzsäure, 25 prozent. Schwefelsäure, 2 prozent. Kalilauge und Toluol ist folgendes zu sagen. Eine Probe mit Salzsäure wurde 2 Stunden unter Rückfluß zum Sieden erhitzt, die andere im Autoklaven auf siedendem Wasserbade. Die Schwefelsäure ließ man 9 Stunden bei etwa 105° einwirken; nach Zusatz von Ammonkarbonat wurde zentrifugiert. Die Proben mit Kalilauge wurden teils $^1/_2$ Stunde auf 95°, teils 5 Stunden auf 70° erhitzt und darauf nach Ansäuern mit Salzsäure zentrifugiert. Eine mit Alkoholäther und warmem Essigester nacheinander behandelte Probe wurde mit Toluol 5 Stunden lang auf 111° erhitzt.

### Nuklein und Nukleinsäure (Grübler).

Nuklein.

Färbemethode: je 1 bis 2 Minuten und $^1/_2$ Minute ohne Tröpfeln und unter Tröpfeln.

Die Vorbehandlung bestand im Erwärmen von Proben mit 15 prozent. Salzsäure, 2 und 4 prozent. Kalilauge bei 36°, während 2 bis 5 Tage; der Versuch mit Salzsäure wurde auf 3 Wochen ausgedehnt. Die Kaliprobe säuerte man vor dem Zentrifugieren wie üblich an. Bei einer anderen Versuchsreihe wurden das eine Mal Nuklein und Quarzsand (je 1 g) mit Kieselgur (0·3 g) $^1/_4$ Stunde lang scharf zerrieben, das andere Mal ohne Nuklein nur mit Kieselgur und Quarzsand, beide Male unter Zusatz von etwas Wasser; Färbemethode hierbei: je 1 Minute und $^1/_4$ Minute tröpfeln.

### Nukleinsäure.

Färbemethode: je 1 bis 2 Minuten und $^1/_2$ Minute ohne Tröpfeln.

Für die Chromatfällung nach A. Fischer (a. a. O. S. 43 und 44) wurden 5 ccm einer 3 prozent. Nukleinsäurelösung (unter Zusatz von $NH_3$) mit 1 ccm einer 5 prozent. Chromsäurelösung versetzt; die Deckglaspräparate mit dieser Chromatfällung wurden wie folgt gefärbt. In dem einen Falle spülte man nur nach dem Zusatze von Alkohol und Fuchsin mit Wasser nach, im anderen Falle nach jedesmaligem Zusatz der Gramflüssigkeit, wie es A. Fischer bei Färbungen für unerläßlich hält. Bei einer anderen Versuchsreihe wurde Nukleinsäure 5 bis 6 Tage einmal mit 15 prozent. Salzsäure, das andere Mal mit 2 prozent. Kalilauge bei 36° erwärmt; das Kalipräparat wurde vor dem Zentrifugieren wieder mit Salzsäure angesäuert.

### Lezithin und Paalsches Dihydrolezithin.

Färbemethode: je 1 Minute und $^1/_2$ bis $^3/_4$ Minute ohne Tröpfeln.

Die Behandlung dieser Präparate wurde mit 15 prozent. Salzsäure bei 36° vorgenommen und dauerte 8 Tage; die Säure sättigte man vor dem Zentrifugieren durch Ammoniak ab.



### Zungenepithelien.

Färbemethode: je 1 Minute und $^1/_2$ Minute ohne Tröpfeln, je 1 Minute und $^1/_2$ Minute tröpfeln (15 bis 30 Tropfen).

Die Epithelien wurden mit 2 n- und 4 n-Salzsäure (7·3 und 14·6 prozent.), mit 0·18 n- und 0·36 n-Kalilauge (1 und 2 prozent.), n/1-Kalicarbonatlösung (6·9 prozent.) 4 bis 17 Tage bei 20, 25 und 36° stehen gelassen; nach Verlauf von 4 und mehr Tagen wurden Proben entnommen; die Erhitzung der Epithelien mit destilliertem Wasser auf 97 bis 98° wurde nur $3^1/_4$ Stunde lang fortgesetzt; Probeentnahme nach $^3/_4$ und $3^1/_4$ Stunden.

### Eiweiß.

Dieses verhält sich bei den Färbungen unter den angegebenen Versuchsbedingungen einmal mehr gramfrei, das andere Mal weniger, wie noch zahlreiche andere Färbungsversuche lehrten; in diesen und den folgenden Fällen sehen wir übrigens Reinblaufärbung bereits als positiven Ausfall der Gramreaktion an. Behandlung des Eiweißes mit Salzsäure ändert an den Färbungsverhältnissen nichts: ein Teil des mikroskopischen Präparates erscheint mehr der weniger gramfest, der andere gramfrei in den verschiedenen Abstufungen. Fischersches Eiweißchromat verhält ich ganz ähnlich; auch beim Eiweißtannat sehen wir die gleichen wechselnden Erscheinungen; ob Serumalbumin (Grübler) mehr nach der positiven Seite als Eiweiß neigt, ist nicht näher untersucht worden.

### Pepton Witte.

Pepton Witte, bekanntlich zum größten Teile aus Albumosen und zum kleineren Teile aus Pepton bestehend, bildet nach dem A. Fischerschen Chromatfällungsverfahren gut ausgebildete Granula verschiedenster Größe. Um das Verhalten von Granula und Gerinnsel beim Pepton besser verfolgen zu können, wurde dasselbe in 2 Anteile zerlegt: in einen in kaltem Wasser löslichen und in einen darin unlöslichen. Den in kaltem Wasser unlöslichen Anteil reinigten wir durch Absetzenlassen des mit Wasser übergossenen Peptons und durch öfteres Dekantieren mit Wasser und brachten ihn dann unter Zusatz von wenig Soda in Lösung. Dieser Peptonanteil neigte nicht zur Granulabildung. Das Wichtigste an allen diesen Versuchen ist, daß Pepton Witte eine Zwischenstellung von gramfest und gramfrei einnimmt, ebenso wie Hühnereiweiß. Von weiterem Interesse ist die Frage, ob die Fischersche Hypothese, daß die großen Granula der Entfärbung durch Alkohol länger widerstehen als die kleinen (a. a. O., S. 116), zu Recht besteht. Da Fischer bei der Gramfärbung eine Wasserspülung nach jedesmaligem Zusatz der Färbungsflüssigkeiten für notwendig erachtet (vgl. a. a. O., S. 84 und 105), wurde auch diese Behandlungsweise als Vergleich zu



der in der Bakteriologie üblichen geprüft. Das Ergebnis aus den zahlreichen Färbeversuchen ist dahin zusammenzufassen, daß die Fischersche Hypothese — beim Pepton wenigstens — im allgemeinen nicht zutrifft; die mikroskopischen Bilder, welche man nach der Fischerschen Methodik erhält, sind zu wechselvoll und schwankend, als daß wir behaupten dürften, der Ausfall der Gramreaktion hänge einzig und allein von der Korngröße ab. Daß ein größerer Substanzreichtum, dichteres Gefüge der Granula und des Gerinnsels bisweilen zu einer mehr oder weniger gramfesten Reaktion führen kann, ist richtig, und ich fand dies auch bei meinen Versuchen in dieser Arbeit öfter bestätigt, aber durchaus nicht regelmäßig, sondern recht schwankend. Dies Schwankende auf Zufälle beim Färbeprozesse zurückführen zu wollen, ist bei dem überaus zahlreichen Versuchsmateriale vorliegender Arbeit nicht angängig.

### Kasein; Schalenhaut des Hühnereies.

Auch hier zeigen sich ähnliche Färbungsverhältnisse wie beim Eiweiß und Pepton Witte; teils positiver teils negativer Ausfall der Gramreaktion. Kasein scheint mehr Neigung zu haben, sich etwas positiver zu färben als Eiweiß, Pepton und die Schalenhaut. Das Ergebnis bei der Schalenhaut ändert sich nicht, wenn Proben derselben mit kalter oder warmer Salzsäure vorbehandelt wurden.

### Horn.

Nicht vorbehandeltes Material zeigte bei kürzerer Einwirkung ($^1/_4$ Minute) des differenzierenden Alkohols Neigung zu Gramfestigkeit (eine Folge des dichteren Gefüges von Horn?), bei einer Dauer von $^1/_2$ Minute ist die Blaufärbung weniger stark. Das Ergebnis verschiebt sich nur wenig, wenn das Hornmaterial mit organischen Lösungsmitteln wie mit Toluol bei 111° oder mit Salzsäure im Autoklaven oder mit 25prozentiger Schwefelsäure (bei etwa 105°) behandelt wurde. Am meisten wirkte noch heiße Kalilauge ein: dieser Umstand, zusammen mit der Beobachtung, daß nach der Einwirkung mit Salzsäure, Schwefelsäure und Kalilauge vereinzelt gelbliche bis farblose Partikelchen bei den Grampräparaten sichtbar wurden, ließ mich vermuten, daß bei bestimmten Substanzen oder Verbindungen, welche gramfest sich verhalten, es doch möglich sei, dieselben durch chemische Eingriffe gramfrei zu machen.

### Nuklein und Nukleinsäure (aus Hefe).

Als ziemlich gut gramfeste Verbindungen erwiesen sich Nuklein und Nukleinsäure. Die Körner und Klümpchen, wie sie durch Verteilung dieser



Verbindungen in Wasser erhalten werden, wurden bei der angewandten Färbungsmethode tiefschwarzblau gefärbt.[1] Durch Behandlung mit Salzsäure und Kalilauge wird Nukleinsäure ersichtlich mehr im gramfreien Sinne gefärbt, desgleichen Nuklein durch Kalilauge, jedoch nicht oder kaum durch Salzsäure. Diese Farbänderung kann nicht physikalischen Ursprungs allein sein; dafür spricht das Verhalten des Nukleinpräparates zu Salzsäure und Kalilauge: durch Salzsäure wird Nuklein in seinem Färbungsvermögen nur ganz geringfügig beeinflußt, während Kalilauge, welche bekanntlich Nuklein in Eiweiß und Nukleinsäure spaltet, in der Weise wirkt, daß die Verbindung etwa zur einen Hälfte blau und tiefblau, d. h. gramfest, zur anderen blaurot und rot, also gramfrei gefärbt wird. Man darf der Vermutung wohl Raum geben, daß dies Färbungsergebnis auf einen Zerfall des Nukleins in Eiweiß und Nukleinsäure zurückzuführen ist. Die Versuche mit Quarzsand und Kieselgur (einer amorphen und weniger reinen $SiO_2$-Verbindung als Quarzsand) zeigen uns klar, daß bei den Färbungen Quarzsand fast farblos bleibt, Kieselgur aber blaßrosa, mitunter auch mit bläulichem Tone gefärbt wird, Beobachtungen, die deutlich darauf hinweisen, daß es Verbindungen und Stoffe gibt, welche sich gramfrei verhalten oder überhaupt keinen Farbstoff (in unseren Falle Fuchsin) annehmen.

### Lezithin und Dihydrolezithin Paal.

Da festhaftende Lezithin-Deckglaspräparate nur schwer herstellbar waren, so wurde Lezithin mit dem gramfesten Nuklein und einem Tropfen Wasser zusammen auf dem Deckglase verrieben, Lezithin verhält sich, wie es scheint, mehr gramfrei; ob daran die fettige Beschaffenheit des Lezithins die Schuld trägt, mag unentschieden bleiben. Bemerkenswert ist, daß nach Behandlung von Lezithin mit Salzsäure dasselbe ziemlich gut gramfest wird; denn bis jetzt hatten wir nur den umgekehrten Fall kennen gelernt, daß gramfeste Bakterien durch Salzsäure gramfrei wurden. Das Paalsche Dihydrolezithin, das sich gramfest verhält, wird durch Salzsäure in seiner Färbung nicht beeinflußt.

### Zungenepithelien.

Die bei diesen Versuchen durchgeführte Trennung in nicht zentrifugiertes und zentrifugiertes Material geschah mit aus dem Grunde, um zu zeigen, daß bei Anwesenheit dicklicher Speichelflüssigkeit die Einwirkung des

[1] Die Verteilung von Nuklein und Nukleinsäure wurde auch durch kräftiges Verreiben mit Quarzsand und Wasser vorgenommen, auch da zeigten sich die Nukleinpräparate gut gramfest.





Reagenz auf die Epithelzellen teils verzögert wird, teils zu einem mehr oder weniger deutlichen mikroskopischen Bilde führt. Deshalb treten bei dem zentrifugierten Materiale die Veränderungen innerhalb der Epithelzellen durch Kalilauge und heißes Wasser besonders schön in Erscheinung. — Aus dem Versuche ergibt sich, daß durch Salzsäure und Kalilauge die Gramfestigkeit der Epithelzellen mit ihren Kernen geschädigt, und diese bei längerer Berührung mit diesen Reagenzien immer mehr gramfrei werden. Eine ganz unbedeutende Wirkung übt die $^n/_1$-Pottaschelösung (6·9 prozent.) aus, vergleichbar mit derjenigen bei Mycoides und Aureus (auf S. 258). Ein gewisses Interesse bietet das Verhalten der Epithelzellen gegen destilliertes Wasser von 97 bis 98°. Wie Kalilauge die Zellkerne bald zum Verschwinden in den Epithelzellen bringt, ebenso wirkt heißes Wasser, nur mit dem Unterschiede, daß im letzteren Falle die Kerne fast vollständig verschwinden; die Epithelzellen selbst erscheinen kräftiger blau gefärbt als beim Ausgangsmateriale.

Bezüglich der den Epithelzellen eingestreuten Hefezellen und Bakterienstäbchen ist zu bemerken, daß nur die ersteren durch die betreffenden Reagenzien 2n-Salzsäure, $^n/_1$-Pottaschelösung und 0·18 n-Kalilauge verschieden stark beeinflußt werden, dagegen nicht die gramfesten Bakterienstäbchen; die Umwandlung der Hefe in gramfreie ist aber verlangsamt, wenigstens was die Einwirkung der 2n-Salzsäure und 0·18n-Kalilauge auf nicht zentrifugiertes Material betrifft, wofür analoge Versuche von früher vorliegen. Auf die Gegenwart der Speichelflüssigkeit wird wohl die verlangsamte Umwandlung zurückzuführen sein.

---

Da sich gezeigt hat, daß die Zellkerne der Zungenepithelien gramfest sind und bei der Einwirkung von Salzsäure, Kalilauge, Pottaschelösung eine große Übereinstimmung in ihrem Verhalten mit gramfesten Bakterien aufweisen, so wurden die Versuche auf solche Objekte ausgedehnt, von denen man annimmt, daß der Hauptbestandteil wie bei den Epithelkernen aus nukleinartigen Verbindungen, auch Chromatin oder chromatische Substanz genannt, zusammengesetzt ist. Hierfür kämen für uns die Zellkerne des Erbsenkeimes (oder auch anderer Keime) mit den Kernteilungsfiguren und außerdem Spermien in Betracht. Im folgenden sind die Untersuchungen nach dieser Richtung hin in Kürze zusammengestellt; die dazu gehörigen, zum Teil sehr reichhaltigen Tabellen sind aus dem schon bekannten Grunde weggelassen.



## Zur Gramfärbung der Zellkerne und Kernteilungsfiguren von Erbsenkeimen.

Triebkräftige Erbsen wurden durch feuchten Sand zum Keimen gebracht; bei einer Länge von 1 bis 2 cm schnitt man das Würzelchen ab. Zum Härten der Präparate wurde sowohl 97 prozent. Alkohol als 1 prozent. Quecksilberchloridlösung verwendet; in Alkohol beließ man den Wurzelkeim 2 bis 3 Tage, in der Quecksilberlösung nur 1 bis $1^1/_2$ Tage. Durch Auslaugen mit destilliertem Wasser entfernte man das Sublimat. Nach der Härtung mit Alkohol oder mit Sublimatlösung wurde das Würzelchen zur Vorbereitung der Mikrotomschnitte mit verdünntem Alkohol — 99 prozent. Alkohol — Toluol — Toluol-Paraffin bei 60° — festes Paraffin bei 60° behandelt. Das Paraffin lösten wir durch Xylol heraus oder auch durch Toluol, welches sich gleichfalls hierzu eignet, wenn auch das Lösungsvermögen etwas geringer zu sein scheint. Die weiteren Flüssigkeiten zur Vorbereitung für die Färbung der Mikrotomschnitte (Längsschnitte) waren Alkohol und Wasser. Gefärbt wurde nach Gram, in einem Falle mit dem bekannten Hämalaun. Wenn auch verschiedene Forscher (G. Retzius, M. Mosse u. a.) Fixationslösungen ohne Säuren wie Essigsäure u. a., absol. Alkohol, Sublimatlösungen zum Färben von Gewebsschnitten besonders empfehlen, so ergab sich hinsichtlich der Sublimathärtung für uns doch die Forderung zu prüfen, ob sich ein Einfluß dieser Metalllösung auf den Ausfall der Gramreaktion bemerkbar macht. Für diesen Zweck wurden Mycoides und Coli mit 1prozent. Sublimatlösung bei etwa 17° 3 bis 5 Tage stehen gelassen. Bei der Entnahme von Proben wurden diese jedesmal vorher 2 bis 3 mal mit destilliertem Wasser zentrifugiert, um alles Quecksilberchlorid zu entfernen. Das Colizentrifugat prüfte man nach 1, 2, und 5 tägiger Einwirkung des Sublimats zum Nachweise von Spuren Hg in den Stäbchen mit verdünntem Schwefelammon; schwärzlich gefärbte Stäbchen konnten hierbei nicht oder nur in ganz geringem Maße mikroskopisch wahrgenommen werden. Die Gramfärbung der mit 1 prozent. Sublimatlösung behandelten Mycoides- und Coliproben ergab folgendes (Färbemethode war: je 1 Minute und $^1/_2$ Minute tröpfeln).

Ein Einfluß der 1prozentigen Sublimatlösung auf Mycoides war nicht erkennbar, auch nicht auf Coli, sofern die Dauer der Einwirkung auf etwa 2 Tage beschränkt blieb; war Coli 5 Tage mit Sublimat in Berührung, so konnte die Färbung nach Gram nicht mehr als gramfrei angesprochen werden: die Stäbchen waren teils tiefblau und blau, teils rosa mit Übergängen, im Gegensatze zu dem gut gramfreien Ausgangsmateriale. Meine Vermutung geht dahin, daß, da Hg in den Colibazillen durch Schwefelammon nicht nachweisbar war, die für die Gramfärbung in Betracht kommenden Zellstoffe (Nukleinproteine, Nukleinlezithine oder ähnliche Verbindungen) durch das Quecksilberchlorid (oder vielmehr durch seine H-Ionen?) eine chemische Änderung erleiden, welche zu dieser unterschiedlichen Färbung führen kann. Ähnliche Farbverhältnisse gerade beim





Colibacillus sind ja dem Bakteriologen eine nicht unbekannte Erscheinung. Nach dem Ausfalle der Vorprüfungen war eine Beeinflussung der Gramfärbung durch Sublimathärtung nicht anzunehmen, falls man sie auf 1 bis $1^1/_2$ Tage beschränkte.

Zu der bei der Färbung der Zellkerne und Kernteilungsfiguren von Erbsenkeimen angewandten Methode ist folgendes zuzufügen. Gefärbt wurde mit Gentiana- und Jodjodkaliumlösung 1 bis 2 Minuten lang, jedoch die Alkoholbehandlung wurde verschiedentlich abgeändert: $^1/_4$ bis $^1/_2$ Minute tröpfeln, Wasserspülung, Fuchsin, Wasser, 2 malige Alkoholspülung, Xylol, Balsam oder: ohne Gegenfärbung mit Fuchsin $^1/_2$ Minute Alkohol tröpfeln, Toluol, Balsam. Hämalaun ließen wir 15 Minuten auf das Präparat einwirken, darauf wurde es in der üblichen Weise weiter behandelt, also Waschen mit Leitungswasser, Entwässern mit abs. Alkohol, darauf Xylol, Balsam.

Man kann die Ergebnisse kurz dahin zusammenfassen, daß sich bei der Gramfärbung (und bei der mit Hämalaun) Kernkörperchen, Chromatinkörnchen, Chromosomen durchschnittlich gut gramfest (= schwarzblau und dunkelblau) verhalten, während die Spindelfasern anscheinend nur eine Blaufärbung zeigen. Von der Substanz, aus welcher Kernkörperchen, Chromatinkörnchen und Chromosomen aufgebaut sind, nimmt man an, daß sie aus Protein- und Nukleinverbindungen bestehe. Irgendwie gesichert ist diese Annahme nicht, und wenn man die Literatur über diesen Gegenstand überblickt (vgl. S. 296), so wird es klar, daß der Name „Nukleinverbindungen“ nur einen Sammelbegriff darstellt für Stoffe, welche bei der Spaltung Nuklein, Nukleinsäure von schwankender Zusammensetzung, nebst eiweißartigen Verbindungen, Zuckerarten u. a. m. liefern.

Durch die obigen Versuche wird nicht entschieden, ob die Gramfestigkeit der Kernkörperchen, Chromatinkörnchen und Chromosomen auf chemischen oder physikalischen Vorgängen beruht. Immerhin ist es auffallend und mit der Fischerschen Hypothese nicht in glatter Übereinstimmung, daß die kleinen Chromatinkörnchen sich ebensogut gramfest wie die Chromosomen färben lassen.

## Zur Gramfärbung von Spermien.

Von Spermien wurden die des Stiers und des Menschen berücksichtigt; erwünscht wäre es in Hinblick auf die Untersuchungen von A. Kossel u. a. gewesen, Material auch vom Lachs und Hering zu verwenden (vgl. hierzu die Literaturzusammenstellung S. 298); wegen der Kriegsverhältnisse war dies leider nicht möglich. Das Stierspermienmaterial stammte von einem frisch geschlachteten, $1^1/_2$ bis 2 Jahre alten gesunden Bullen; zu den Färbungen wurden sowohl die Spermien des Hodens wie des Nebenhodens be-



nutzt. Die Versuchsanordnung schloß sich der schon früher angegebenen an; das Spermienmaterial wurde wieder in Reagenzgläsern angesetzt; an Reagenzien kamen folgende zur Anwendung: 2 n-, $^n/_1$- und auch $^n/_2$-Salzsäure bei 36°, 0·04 bis 0·36 n-Kalilauge bei 36°, $^n/_2$-Buttersäure bei 36° und 25°, 97 prozent. Alkohol bei 36° und 3 Wochen bei 20°, Alkoholäther bei 20° 12 Tage lang. Angewandte Färbemethode war: je 1 Minute und $^1/_2$ Minute Alkohol ohne Tröpfeln.

Zu den Versuchen mit den Spermien ist zu sagen, daß allgemein die Gramfärbung der untersuchten Spermien durch zwei verschiedene Faktoren beeinflußt werden kann: 1. durch die schleimige Beschaffenheit des Samenblasensekretes, falls es durch chemische Reagenzien noch keine Veränderung erlitten hat, und 2. durch Behandlung mit physiologischer Kochsalzlösung. Was den ersten Fall betrifft, so hat sich gezeigt, daß die nicht zentrifugierten Spermien bei gleicher Färbungsweise ein blasseres Blau zeigen als die mit Wasser zentrifugierten; hierbei mag es dahingestellt bleiben, inwieweit wiederum der Zusatz von destilliertem Wasser zum Sekret auf die Färbbarkeit der Spermien von Einfluß ist. Daß physiologische Kochsalzlösung den positiven Ausfall der Gramreaktion mehr oder minder deutlich beeinträchtigen kann, wurde durch besondere Versuche an Stierspermien des Nebenhodens und an menschlichen Spermien erwiesen. Da also die beiden genannten Faktoren für die Färbbarkeit der Spermien von Bedeutung sein können, so war es schwierig, eine völlig einwandfreie Behandlungsweise des Materials anzuwenden. Im einzelnen ist von den Beobachtungen folgendes hervorzuheben.

### Stierspermien.

Hier sowohl wie bei den menschlichen Spermien beobachtet man, daß ohne Vorbehandlung mit Chemikalien Kopf- und Schwanzteil unterschiedlich gefärbt werden: im Kopfteile herrscht mehr ein Blau vor, im Schwanzteile mehr eine rötliche Farbentönung. Bei den Stierspermien geht das Blau des Kopfhinterstückes in ein Blaßblau oder Rotblau über, während der Schwanzteil in seiner gesamten Länge eine rötliche Färbung besitzt; beim Verbindungsstück ist diese regelmäßig kräftiger und dunkler, doch selten ein reines Blau. Oft ist das Verbindungsstück durch dunkle, punktförmig aneinander gereihte Differenzierungen ausgezeichnet. Die Färbung des Kopfes ist allgemein blasser als bei den menschlichen Spermien und weist zum Unterschiede von diesen oftmals streifige, in der Längsrichtung des Kopfes liegende dunkelblaue Differenzierungen auf. Durchschnittlich ist der dem Halse anliegende Teil des Kopfes strichförmig dunkelblau und schwarzblau gefärbt. Bezüglich der Einwirkung von Salzsäure und Kalilauge auf die Stierspermien ist bemerkenswert,



daß Salzsäure bei kurzer Behandlung die zentral und die basal blau bis schwarzblau differenzierten Stellen des Kopfes zum Verschwinden bringt; die Färbung desselben macht einer mehr gleichmäßig blaßblauen und blaßblauroten Platz; nach 2 Tagen etwa ist der Kopfinhalt bei sehr vielen mehr oder weniger herausgelöst, so daß die wahrscheinlich inhaltsleeren Hülsen nur ganz blaß oder überhaupt nicht gefärbt erscheinen. Der Schwanzteil zeigt bei der Behandlung mit Salzsäure eine rote, blaurote und auch schwarzblaue Färbung. Ob die mehrfach hierbei beobachteten gramfesten Körnchen dem Kopfinhalte entstammen, ist ungewiß, aber nicht unwahrscheinlich. Zum Unterschiede von Salzsäure wirkt Kalilauge in der Weise ein, daß die Färbung des Kopfinhaltes — das ist ja die uns am meisten interesseirende Frage — offensichtlich mehr oder weniger stark nach Rot umschlägt; bei längerer Einwirkung der Lauge scheint eine Zunahme der Rotfärbung nicht immer stattzufinden, wie Versuche zeigten. Kalilauge löst den Schwanzteil nach ziemlich kurzer Zeit fast ganz auf, nur das Kopfstück bleibt erhalten, während, wie erwähnt, Salzsäure die Eigenschaft besitzt, nur den Inhalt des Kopfes herauszulösen.

## Menschliche Spermien.

Im Vergleiche zu den Stierspermien ist bei den menschlichen Spermien das Hinterstück des Kopfes gramfest; dieser tiefblau bis schwarzblau gefärbte Teil nimmt eine größere Fläche ein als bei den Stierspermien, und so können wir vielfach Spermienköpfe beobachten, bei denen die Hälfte und drei Viertel der Kopffläche blau, dunkler bis schwarzblau gefärbt sind, seltener zu einem Viertel und vier Vierteln. Wie bei den Stierspermien, so ist auch hier, abgesehen von den vollgefärbten (= vier Vierteln) Köpfen das Vorderstück nur ganz blaß (blaßblau und blaßblaurot) gefärbt; die Rundung der Kopfspitze ist deshalb häufig weniger deutlich sichtbar. Der rötliche und blaurote Ton herrscht, wie schon erwähnt, auch beim Schwanzteile der menschlichen Spermien vor. Der Hals erscheint oft ungefärbt, jedoch nicht so häufig wie bei den Stierspermien, das Verbindungsstück ist durch kräftigeren Farbton hervorgehoben und durch mehrere dunklere Pünktchen ausgezeichnet.

Die Einwirkung von Salzsäure und Kalilauge auf die Spermien vollzieht sich allgemein in gleicher Weise wie bei den Stierspermien: die Säure löst leicht den Kopfinhalt heraus; die schwach färbbaren Kopfhülsen mit den Schwänzen bleiben zurück, während Kalilauge nur den Schwanzteil weglöst. Daß $^{n}/_{2}$-Buttersäure (4·4 prozent.) bei 36° und einer Dauer von 3 bis 21 Tagen nicht wie Salzsäure die Wirkung hat, den Kopfinhalt herauszulösen, wird wohl in der geringen Dissoziierbarkeit



dieser organischen Säure begründet sein. Die mehr oder minder starke Gramfestigkeit der Spermienköpfe des Menschen geht durch Salzsäure und Kalilauge deutlich und klarer als bei den Stierspermien nach der gramfreien Seite über. Bezüglich der Kaliwirkung beobachten wir die interessante Erscheinung, daß bei einigen Versuchen ein Teil der Köpfe, mitunter sogar der größere Teil, schwarzblau (= gut gramfest) gefärbt ist, ferner daß bei Einwirkung der Kalilauge unter gewissen Bedingungen die Gramfestigkeit, wie es scheint, zurückgeht und einer Blau- und Rotfärbung Platz macht. Neben gramfesten Spermienköpfen sieht man schon bei kurzer Kalieinwirkung (2prozentige KOH nach 7 Stunden bei 36°) die Hälfte und mehr gut gramfrei. Bemerkenswert ist hier, daß durch die 7stündige Einwirkung der 2prozentigen Kalilauge eine fast klare Lösung entstanden ist, aus der die Spermienköpfe (ohne die Schwänze) durch Ansäuern mit verdünnter Salzsäure wieder abgeschieden werden konnten, genau so, wie wir es bei analogen Versuchen mit gramfesten Bakterien beobachtet haben.

Allen diesen Versuchen mit Salzsäure und mit Kalilauge ist gemeinsam, daß die Färbung der Köpfe gleichmäßiger ist als beim Ausgangsmaterial; es fehlt durchschnittlich die Differenzierung des Kopfteiles, wie wir sie beim Original finden.

Eine längere Aufbewahrung der Spermien in Alkohol und in Alkoholäther bei Zimmertemperatur scheint nach vorliegendem Versuchsmateriale keine merkliche Änderung in der Färbung hervorzurufen. Dies stimmt auch gut mit den Beobachtungen überein, welche bei der Behandlung von Bakterien mit Alkohol und anderen organischen Lösungsmitteln bei 17 bis 20° (vgl. S. 265 u. 268.) gemacht wurden.

## Zur Biondifärbung der Spermien.

In seinem Werke bespricht G. Retzius das Verhalten der sich entwickelnden Spermien der Mammalier zu der Biondifärbung (6. Kap.); in der Tab. XXII finden sich farbige Abbildungen (Figg. 17 bis 27) reifer Spermien vom Menschen nach der Behandlung mit dem Ehrlich-Biondigemische.[1] Diese Biondifärbungen lassen einen Vergleich zu der von uns geschilderten Gramfärbung menschlicher Spermien zu. Retzius hebt bei den reifen Spermien die intensiv grüne Färbung des Kopfes hervor, besonders in der hinteren Partie desselben, während das Vorderstück sich bedeutend heller grün färbt. Wie bei den nach Gram gefärbten Spermien

[1] Es ist dies eine wässerige Lösung von Rubin-, Orange- und Methylgrünfarbstoff (Retzius).



sind auch bei den Retziusschen Präparaten voll, zur Hälfte und zu einem Viertel grün gefärbte Köpfe zu sehen; die Vollfärbung scheint aber nur bei den auf der schmalen Seite liegenden Köpfen einzutreten. Das Schwanzstück färbt sich nach beiden Färbemethoden ziemlich einheitlich, d. h. bei der Gramfärbung rötlich bis blaurot, bei der Biondifärbung rötlich; in beiden Fällen ist der Schwanzanhang mit der Manschette kräftiger gefärbt als der übrige Teil des Schwanzes. Während das Verbindungsstück nach der Retziusschen Zeichnung schwache, etwas verwischt aussehende Differenzierungen aufweist, beobachtet man bei der Gramfärbung des öfteren, jedoch nicht regelmäßig, durch kräftigeren Farbton hervorgehobene Punktierungen.

Aus dieser Gegenüberstellung ersieht man, daß die Grünfärbung nach Biondi der tief- bis schwarzblauen Färbung nach Gram entspricht. Die Grünfärbung der Spermienköpfe bleibt nach den Angaben von Retzius (a. a. O., S. 68) auch dann bestehen, wenn das Sperma eine starke Fäulnis durchgemacht hatte, eine Beobachtung, welche auch für die Gramfärbung zutrifft, wie aus einem mit schwach fauligem Material angestellten Versuche hervorgeht.

Nicht unerwähnt möge die Bemerkung von Retzius auf S. 68 (a. a. O.) bleiben, daß die Neigung zur Grünfärbung mit Biondi bei verschiedenen Tierklassen etwas wechselt; bei einigen davon scheint sie besonders stark ausgeprägt zu sein, bei anderen wieder in geringerem Maße. Analoge Verhältnisse finden sich, wie wir oben gesehen haben, bei den Spermien vom Stier und vom Menschen; auch hier ist die Farbstärke verschieden: eine Blau- bis blassere Färbung bei den Spermienköpfen des Stieres, eine Tiefblau- bis Schwarzblaufärbung bei denen des Menschen.

An dieser Stelle dürfte es angebracht sein, nicht bloß das über die chemische Zusammensetzung von Spermienköpfen Bekanntgewordene in Kürze anzuführen, sondern auch das, was überhaupt an Arbeiten über nukleinhaltige Verbindungen und Substanzen bis jetzt (1916) erschienen ist, da diese Untersuchungen in wenig übersichtlicher Weise in der Literatur wiedergegeben sind.

## Zusammenstellung der in Betracht kommenden Literatur über nukleinhaltige Substanzen.

Die allgemeine Annahme geht dahin, daß im Zellkerne Nukleine, Nukleoproteide (Verbindungen von Nukleinsäuren mit verschiedenen eiweißartigen Stoffen) enthalten sind (vgl. Botazzi-Boruttau, Hammarsten, Heidenhain, Verworn, Abderhalden u. a.). Nach Botazzi-Boruttau „bilden die Proteide die morphologische Grundlage jedes Kernes wie auch jeden

Protoplasmas, den festorganisierten Anteil der zelligen Elemente, an welchen der Bestand des Lebens geknüpft ist. — Die Nukleoproteide reagieren sauer und verbinden sich leicht mit Alkalien." Verworn ist der Ansicht, daß die „echten" Nukleine im Protoplasma ganz zu fehlen scheinen. Abderhalden nimmt in jeder Kernart spezifisch gebaute Eiweißanteile an, welche in den Nukleinen und Nukleoproteiden enthalten sind; so ist nach ihm die Eigenart des Abbaues bestimmter organischer Verbindungen für manche Mikroorganismen ebenso charakteristisch wie ihr morphologisches Verhalten und ihre übrigen biologischen Eigenschaften.

Im Anschlusse hieran mögen Angaben über Bakteriengifte kurz erwähnt werden. Kruse in seiner „Mikrobiologie" (S. 857 und ff.) weist darauf hin, daß nach Dörr bei Diphtherie-, Dysenterie- und Staphylotoxin durch stark dissoziierte Säuren, nicht aber durch schwach dissoziierte, eine Abschwächung der Giftwirkung eintritt, bei lange andauernder Behandlung mit Säure eine Zerstörung des Giftes stattfindet. Bekannt ist ja auch, daß gegen Temperaturen die verschiedenen Gifte sich verschieden verhalten (S. 875), für jedes Gift gibt es eine Temperaturgrenze, bei der dasselbe seine Wirksamkeit einbüßt; in getrocknetem Zustande überstehen die Gifte eine Erhitzung viel besser, in Übereinstimmung mit den Enzymen, z. B. der Buchnerschen Hefenzymase. Von Wichtigkeit für uns ist noch die neuere Beobachtung Galeottis, daß ein aus Choleravibrionen durch Kali abgeschiedenes Nukleoproteid die charakteristischen Cholerasymptome bedingte.

## Über die Färbung von Eiweißstoffen und nukleinhaltigen Substanzen.

Von den vielen in der Literatur verstreuten Angaben über das färberische Verhalten von Eiweißstoffen füge ich nur einige an. Lilienfeld (1893) zeigte, daß aus einer Lösung von Methylgrün mit Fuchsin Eiweiß das Fuchsin, Nukleinsäure dagegen das Methylgrün mit starkem Farbton aufnehmen. A. Fischer, dessen Werk über Fixierung usw. des Protoplasmas schon angeführt worden ist, dehnte seine Färbungsversuche auf zahlreiche organische Gebilde und Verbindungen aus. Fischer unterscheidet hier regelmäßig zwischen Farbstoffen sauren und basischen Charakters. Serumalbumin- und -globulin, mit Alkohol gefällt, färben sich mit allen sauren und basischen Farbstoffen sehr stark, mit Ausnahme von Methylgrün; mit Sublimat gefällte Albumose wird in ihrer Färbbarkeit nicht beeinflußt, nur Methylgrün wird bei dieser Fällungsart etwas aufgenommen. Nuklein (aus Essigsäurefällung) färbt sich gleich gut mit sauren wie mit basischen Farbstoffen. Von Bedeutung für uns sind Fischers Versuche mit Nukleinsäure und mit Pepton. Hefenukleinsäure (durch Sublimatfällung) nimmt keine sauren Farbstoffe auf, dagegen basische sehr stark; diese sogenannte Acidophobie läßt sich nach Fischer auch durch Fixierungsmittel nicht beseitigen. Dagegen färbten sich gerinnselartige Gebilde von Albuminnukleanat, durch Fällung von Serumalbumin mit Nukleinsäure entstanden, mit basischen und sauren Farben gleich gut. Nukleinsäure als Platinfällung nimmt saure Farbstoffe dann an, wenn ein tropfenweiser Zusatz von verdünnter Schwefelsäure zu den Farblösungen erfolgt; eine chemische Beeinflussung der Nukleinsäuregranula wird nach Fischer als ausgeschlossen betrachtet. Zu den „acidophoben"



Verbindungen gehört auch das Pepton, doch auch die basischen Farbstoffe sind hier von ziemlich geringer Färbekraft.

Von weiteren Forschern mag M. Heidenhain (1907) genannt werden, welcher der Ansicht ist, daß alle Eiweißkörper wegen ihrer sauren und basischen Natur nach 2 Seiten hin reagieren, da sie sowohl Farbbasen wie Farbsäuren aufzunehmen imstande sind; hierbei zeigt sich, daß bestimmte Eiweißverbindungen vorzugsweise nach der einen, andere nach der anderen Seite hin zu reagieren befähigt sind. In das für uns in Betracht kommende Gebiet fallen auch die Arbeiten von Feulgen (1912, 1913) über das Verhalten von Nukleinsäuren zu Farbstoffen; sein Hauptzweck war, zu prüfen, ob die Färbbarkeit des Zellkernes mit basischen Farbstoffen auf einer wirklichen Salzbildung oder nur auf einer Adsorptionserscheinung beruht. Er gewann u. a. eine Verbindung von Nukleinsäure (mittels Natriumnukleanats; Formel = $C_{43}H_{57}N_{15}P_4O_{34}Na_4 \cdot 9H_2O$) mit Malachitgrün (wahrscheinlich ein nukleinsaures Malachitgrün), ferner ein nukleinsaures Malachitgrünleukohydrat, schwer rein erhältlich. Mit einem Nukleinate (aus einer Nukleinsäure von Kalbsthymus bereitet) des Kristallviolettleukohydrates und einem der Methylenblaubase stellte er einige Löslichkeitsversuche an. Während die Kristallviolettverbindung in Methyl- und Äthylalkohol löslich war, aber nicht unverändert, zeichnete sich die Methylenblauverbindung dadurch aus, daß in den Lösungsmitteln keine Abspaltung der Farbbase eintrat. Bei späteren Versuchen benutzte Feulgen neben der Nukleinsäure aus Thymusdrüse eine Pankreasnukleinsäure und fand da, daß das thymusnukleinsaure Kristallviolett in methylalkoholischer Lösung sehr leicht die Hälfte seines Farbstoffgehaltes unter Bildung eines sauren Salzes abgibt, während das pankreasnukleinsaure Kristallviolett im Holzgeist sich als beständig erwies. Zu einer Entscheidung der Frage, ob Salzbildung oder Adsorption die Zellkernfärbung bedinge, kam Feulgen nicht. Einen beachtenswerten Beitrag zu dieser Frage brachte S. Skraup (1916) in einer Arbeit über „Vitalfärbung mit einfachsten Farbstoffen und ihre Fixierung“; auf Grund seiner experimentellen Versuche faßte er die Vitalfärbung und hiermit die Färbung überhaupt als eine Adsorptionserscheinung auf.

## Über die Zusammensetzung und das chemische Verhalten von Protaminen und Nukleinsäuren.

Miescher war der erste, welcher durch Ausziehen von Spermien des Rheinlachses ein Protamin darstellte; es ist eine starke Base, welche im Spermienkopfe als nukleinsaures Protamin enthalten sein soll; sie wird durch Sublimat und andere Eiweißfällungsmittel gefällt. Nach Ansicht Piccards war das Protamin Mieschers durch Guanin und Hypoxanthin verunreinigt. Später (von 1896 ab) beschäftigte sich A. Kossel eingehend mit der Untersuchung von Protaminen der Spermienköpfe. Die Darstellungsweise Kossels interessiert uns besonders; er verfuhr in folgender Weise. Die Testikeln des Lachses und des deutschen Störes wurden in bestimmter Weise mit Wasser bei gewöhnlicher Temperatur behandelt und vom Flüssigen nach Zusatz von wenig Essigsäure durch Filtration befreit; den Rückstand kochte er mehrmals mit Alkohol aus, zog ihn dann mit Äther aus und schüttelte

die zurückbleibenden, mit Alkohol und Äther ausgezogenen Anteile mehrmals mit 1 prozent. Schwefelsäure bei gewöhnlicher Temperatur durch. Aus dem schwefelsauren Filtrate wurde das Protaminsulfat durch Alkoholzusatz abgeschieden und gereinigt. Auf Grund von Elementaranalysen stellte Kossel eine vorläufige Formel für das aus Lachsspermien gewonnene Protaminsulfat auf; 1898 entschied er sich nach erneuter Darstellung dieser Verbindung für die Formel $C_{30}H_{59}N_{17}O_7 \cdot 2H_2SO_4$, welche er in Anlehnung an das Protamin aus Heringsspermien abänderte in $C_{30}H_{57}N_{17}O_6 \cdot 2H_2SO_4 + H_2O$, da die Protamine nach Kossels Ansicht in mehreren Hydrationsstufen vorkommen, welche leicht ineinander übergehen können. Dieses Protaminsulfat aus Lachsspermien nannte er Salminsulfat und das aus Störspermien Sturinsulfat, dessen Zusammenhang wahrscheinlich folgender ist: $4C_{36}H_{69}N_{19}O_7 + 11H_2SO_4$. Für das aus Heringsspermien gewonnene Protaminsulfat, Clupeinsulfat genannt, schlug er die Formel $C_{30}H_{59}N_{17}O_7 \cdot 2H_2SO_4$ vor. Alle diese Protamine sind weiße lockere Produkte, wie scheint, ohne kristallinische Eigenschaften. Nach Kurajeff sollen Salmin und Clupein identisch sein; die Protamine geben mit Eiweiß oder Albumose dem Histon ähnliche Verbindungen; hierzu mag erklärend zugefügt werden, daß Abderhalden (Handbuch II, 1910, S. 446 nach Steudel) die Histone in die Mitte von den einfachen (wie den Protaminen) und den komplizierten Eiweißstoffen stellt. — 1897 untersuchte Mathews die Spermien eines Seeigels (Arbacia) und des Herings. Zerschnittene Hoden des Seeigels wurden, nachdem sie mehrere Monate in 92 prozent. Alkohol, wahrscheinlich bei gewöhnlicher Temperatur, gelegen hatten, mit Alkohol ausgekocht und mit Äther ausgezogen. Der Alkohol-Ätherauszug enthielt nun 16·4 Prozent Lezithin, 7·1 Prozent Cholesterin und 76·5 Prozent Fette u. ähnl. In dem derartig entfetteten Spermienmateriale wies Mathews Nukleinsäure (Formel = $C_{40}H_{54}N_{14}P_4O_{27}$) nach und an Stelle von Protamin das sogenannte Arbacin, welches eine kompliziertere Eiweißverbindung darstellt. Mathews ist der Ansicht, daß das „Chromatin" des Spermienkopfes der Arbacia wahrscheinlich ganz oder teilweise aus einer Verbindung der Nukleinsäure mit Arbacin besteht; die Arbaciaspermien enthielten keine freie Nukleinsäure, auch kein in Ammoniak lösliches Nuklein. Er begründet seine Ansicht damit, daß vor der Behandlung der entfetteten Spermien mit 1 bis 2 prozent. Schwefelsäure keine Nukleinsäure durch Ausziehen mit Wasser oder Ammoniak abgeschieden werden konnte. Weiterhin gewann Mathews aus den Spermienköpfen des Herings nukleinsaures Protamin, dem er die Formel $C_{30}H_{57}N_{17}O_6 \cdot C_{40}H_{54}N_{14}P_4O_{27}$ zuschreibt. Auch Eber- und Stierspermien zog Mathews in den Kreis seiner Untersuchungen; besonders sind es die Stierspermien, welche uns interessieren. Miescher hatte in den Stierspermien kein Protamin nachweisen können; zu dem gleichen Ergebnisse kam auch Mathews; weder in den Stier- noch in den Eberspermien gelang es ihm nach der Kosselschen Methode, protamin- oder histonähnliche Verbindungen abzuscheiden, nur Spuren eines nicht näher von ihm beschriebenen Eiweißkörpers erhielt er. — Aus den mit Alkohol und mit Äther vorbehandelten Spermien der Makrele gewann Kurajeff 1898 nach der Kosselschen Methode (unter Anwendung von 1 prozent. Schwefelsäure) ein Protaminsulfat, Scombrinsulfat genannt, welches gereinigt die Zusammensetzung $C_{30}H_{60}N_{16}O_6 \cdot$



$2 H_2SO_4$ und $a_D = -71 \cdot 81^0$ hatte. Kurajeffs Ansicht geht dahin, daß in den Spermien verschiedener Tiere Protamin mit Nukleinstoffen verbunden enthalten sei (vgl. hierzu die Ergebnisse von Mathews bei den Stier- und Eberspermien!). — Nach Malenück kommt auch in den Spermien des russischen Störes (Accipenser Guldenstädtii) ein Protamin vor; er arbeitete nach der Kosselschen Methode; das Material wurde vorher mit Alkohol ausgekocht und darauf mit Äther im Soxhlet ausgezogen. Zusammensetzung des Protaminsulfates $= C_{27}H_{55}N_{13}O_7 \cdot 2 H_2SO_4$ (vgl. auch oben die von Kossel für Sturinsulfat aufgestellte Formel!). — A. Kossel und Kutscher (1900) gewannen aus den reifen Spermien von Gadus (Kabljau) ein Histon (Gadushiston) und Ehrström (1901) aus den reifen Spermien von Lota vulgaris das Lotahiston. — Dezani (1909) fand, daß die aus Thunfischspermien abgeschiedenen Proteinbasen sich in ihrem Verhalten den Histonen nähern. — Zur Gewinnung von Nukleinsäure behandelte Steudel (1911) Heringsspermien in folgender Weise. Die Spermien wurden häufig mit Wasser zentrifugiert, hierbei blieben nur die Köpfe im Sediment als schweres weißes Pulver zurück; den Rest der Schwänze entfernte er durch erschöpfendes Ausziehen mit Alkohol und mit Äther. Aus diesem Spermienmateriale schied er eine Nukleinsäure von der Zusammensetzung $C_{43}H_{57}N_{15}P_4O_{30}$ ab.

Hiermit schließen in der Hauptsache die Versuche mit Spermienmaterial ab; dafür setzen Arbeiten ein, welche u. a. besonders die Erforschung des Abbaues von Nukleinsäuren zum Ziele haben. Im folgenden ist eine Auswahl solcher Arbeiten (bis 1916) mitgeteilt, soweit sie uns für das vorliegende Untersuchungsmaterial von einiger Bedeutung zu sein schienen.

Levene und Jacobs (1911) nehmen bei der Hefennukleinsäure an, daß sie aus 4 „Nukleotid" genannten Komplexen besteht, welche der Inosinsäure und Guanylsäure analog zusammengesetzt sind; durch gemäßigte Hydrolyse der Hefennukleinsäure gelang es ihnen, ein Pyrimidinnukleotid (Cytidin-Nukleotid) =

$$OP \begin{cases} OH \\ O \cdot C_9H_{12}N_3O_4 \\ OH \end{cases}$$

darzustellen und das Uridin-Nukleotid (Uridinphosphorsäure, s. u.) =

$$OP \begin{cases} OH \\ O \cdot C_9H_{11}N_2O_5. \\ OH \end{cases}$$

In einer Mitteilung in Gemeinschaft mit La Forge (1912) faßt Levene seine Ansicht dahin zusammen, daß die organischen Komplexe der Hefennukleinsäure zum Teil aus Purin-, zum Teil aus Pyrimidinbasen zusammengesetzt sind. Die Pyrimidinkomplexe sind entgegen den Purinkomplexen durch ihre Widerstandskraft gegenüber der hydrolysierenden Wirkung von verdünnten Mineralsäuren und Enzymen ausgezeichnet; die Pyrimidinkernkomplexe bestehen aus Pyrimidin + Ribose, miteinander glykosidartig gebunden. Levene und La Forge gaben dem Pyrimidinkerne die Form eines C- und N-haltigen, sechsgliedrigen Ringes. — Plimmer und Scott (1908) machen über das chemische Verhalten von Nukleinsäure (Hefennukleinsäure?) interessante Angaben. Nukleinsäure ebenso wie Nukleoproteine sind gegen



Salzsäure wenig beständig; es wird hierbei Phosphorsäure langsam abgespalten, während sogenannte Phosphoproteine durch Salzsäure unter gleichen Bedingungen nicht verändert werden. Läßt man auf Nukleinsäure bei 37° 1 prozent. wässerige Natronlauge 24 Stunden lang einwirken, so wird kein P als Phosphorsäure abgeschieden. Als Plimmer (1913) auf Nukleinsäuren, welche aus Thymus, Weizen oder Fleisch dargestellt waren, die Fermente des Darmkanals einwirken ließ, beobachtete er eine Hydrolyse dieser Säure; wurde statt der Fermente n-Salzsäure ($^n/_1$ bis 2n) benutzt, so war die Hydrolyse der Nukleinsäure erst nach 8 Tagen bei einer Temperatur von 75° beendet; 76 Tage dagegen währte es, wenn man an Stelle von Salzsäure $^n/_1$- bis 2n-Natronlauge derselben Temperatur anwendete, wobei noch ein kleiner Teil unveränderter Nukleinsäure im Reaktionsgemische zurückblieb. Plimmer stellte außerdem vergleichende hydrolytische Versuche an mit organischen Phosphorverbindungen wie Glycerophosphorsäureester, Phosphorsäureäthylester, Hexosephosphorsäure und einer „Phytinsäure“: es werden Glycerophosphorsäureester, Phosphorsäureäthylester und noch langsamer Phytinsäure durch Säuren hydrolytisch gespalten, die beiden ersteren in 10 Tagen bei 92°, Phytinsäure in 8 Tagen, aber nur zur Hälfte; Alkali ist bei allen dreien ohne jede Einwirkung, während Hexosephosphorsäure durch n-Alkali ($^n/_1$ bis 2n) in 1 Tage, durch n-Salzsäure in 3 bis 5 Tagen hydrolysiert wird. — In bezug auf die obigen Ergebnisse von Levene und La Forge ist eine Mitteilung Steudels (1912) beachtenswert, welcher zu dem Schlusse kommt, daß bei der Thymusnukleinsäure eine glykosidartige Bindung N-haltiger Körper mit dem Hexosemolekül anzunehmen ist. — Im Anschlusse an die Steudelsche Arbeit mögen die von Johnson und Chernoff (1913) und die von van Ekenstein und Blanksma (1914) erwähnt werden. Es ist bemerkenswert, daß diese Forscher ebenso Levene und La Forge im Gegensatze zu Steudel, welcher an Thymusnukleinsäure eine Hexose abschied, aus Nukleinsäuren eine Pentose und zwar Ribose erhielten; v. Ekenstein und Blanksma bezeichnen sie als *d*-Ribose. Von der Johnson-Chernoffschen Arbeit interessiert noch das Folgende. Ihre Versuche stellten Johnson und Chernoff mit Nukleinsäuren, aus Hefe und aus Thymusdrüse gewonnen, an; sie fassen wie Levene und La Forge (s. oben) die Nukleinsäure als Polynukleotide auf, welche bei gemäßigter Hydrolyse das Nukleotid liefern und sich bei weiterer Hydrolyse in Purin- und Pyrimidinbasen nebst Kohlenhydrate spalten; die Spaltstücke dieser Nukleotide sind die Basen Adenin, Guanin, Cytosin, Uracil und eine Pentose, nämlich Ribose. Johnson und Chernoff fassen Pyrimidinnukleotid als ein Additionsprodukt eines Pyrimidins und eines Zuckers auf. In Übereinstimmung mit Levene und La Forge fanden sie, daß die pyrimidinhaltigen Nukleotide schwer hydrolysierbar sind; erst konz. Säure bei Temperaturen von 120 bis 130° führen Spaltung herbei, während die purinhaltigen Komplexe durch verdünnte Säuren leicht zu hydrolysieren sind. Folgende Arbeiten über die Einwirkung von Fermenten u. a. auf Nukleinsäure mögen noch kurz angeführt werden. Hefennukleinsäure wird nach de la Blanchardière (1913) durch die Fermente des Thymus und der Leber abgebaut, durch Hefepulver bei 40° unter Zusatz von Chloroform nach Versuchen von Jones und Richards (1914) in das Guanosinsalz der Guanylsäure ge-



spalten, liefert nach Thannhauser (1914) mit menschlichem Duodenalsafte bei 37⁰ unter Zusatz von Toluol nach Verlauf von 72 Stunden eine „Triphosphonukleinsäure“ genannte Verbindung $C_{32}H_{49}O_{23}N_{15}P_3$. Hydrolysiert man nach Thannhauser und Dorfmüller (1914) Hefennukleinsäure in ammoniakalischer Lösung bei 120 bis 125⁰ u. Druck, so entstehen zwei kristallinische Substanzen, von denen die eine (Triphosphonukleinsäure) näher untersucht wurde (s. w. u.). Die Eigenschaften der Nukleinsäure werden von Steudel in Abderhaldens Handbuch II, 1910, S. 575 etwa wie folgt beschrieben. Die Nukleinsäure ist schwer löslich in kaltem Wasser, in heißem nur unter Zersetzung löslich, unlöslich in Alkohol und Äther. Die „echte“ Nukleinsäure dreht das polarisierte Licht nach rechts; Steudel faßt diese „echte“ Nukleinsäure als eine Tetrametaphophorsäure auf, welche, den Glyzerinphosphorsäuren ähnlich, an jedem P-Atome eine Hexosengruppe (und auch Pentosengruppe, *D.*) enthält, an die je ein Molekül Guanin, Adenin, Thymin und Cytosin gebunden ist. — Schließlich möge hier noch der schematische Abbau von Nukleoproteid durch Pepsin zur besseren Übersicht mitgeteilt werden (vgl. z. B. Euler-Lindner). Man nimmt an, daß Nukleoproteid hierbei in eine Eiweißart und ein Nuklein gespalten wird, worauf das Nuklein durch NaOH in Nukleinsäure und eine Eiweißart zerfällt und die Nukleinsäure durch Einwirkung bestimmter Agentien weiter in kleinere Spaltstücke wie Pyrmidin- und Purinbasen, Kohlenhydrate usw. — Daß über Nuklein, über sein Verhalten und ähnliches nur ganz wenig bekannt geworden ist, wird aus Obigem ersichtlich. Diesem mag nur noch zugefügt werden, daß zur Darstellung von Nuklein nach Kossel Hefeschlamm in ganz verdünnte Natronlauge eingetragen wird, worauf das Reaktionsgemisch sofort in verdünnter Salzsäure filtriert wird; durch die Säure wird das gelöste Nuklein zur Ausscheidung gebracht.

(Während des Druckes erschienen.) Nach den neuesten wertvollen Untersuchungen von Thannhauser und Dorfmüller besitzt die Triphosphonukleinsäure die Formel $C_{29}H_{42}O_{23}N_{13}P_3$; sie stellen u. a. für die Uridinphosphorsäure folgende Konstitutionsformel auf (die für Triphosphonukleinsäure s. im Orig. nach):

```
OH\               H   H   H   H
O==>P—O· CH2 · C · C · C · C · N—CO
OH/               \OH OH /      |   |
                    \   /       CO  CH
                     \ /        |   ||
                      O         NH·CH
```

## Zusammenfassung der bisherigen Ergebnisse; Folgerungen hieraus.

Auf S. 248 und 254 haben die Versuche von Aureus, Mycoides und Hefe mit stark und schwach ionisierten Säuren ergeben, daß diese Bakterien hierdurch mehr oder weniger gramfrei werden; beschleunigt wird dieser Vorgang durch Erhöhung der Reaktionstemperatur und der Säurekonzentration. Ganz nach der Größe ihrer Dissoziation[1] wirken die Säuren

[1] Milchsäure als einzige der bis jetzt untersuchten Säuren macht eine Ausnahme.





(vgl. die messenden Versuche mit Hefe, S. 253); starke führen in kurzer Zeit den Verlust der Gramfestigkeit herbei, mittelstarke langsamer und schwache, wie die Ameisensäure bei einer Konzentration von $^{n}/_{2}$, fast gar nicht; niedrige Temperaturen, wie 8° und tiefer, verlangsamen den Übergang zu Rot im Vergleiche zu den höheren Temperaturen wie 22° und 36°; die Reaktionsgeschwindigkeit wird also herabgedrückt wie bei chemischen Prozessen. Andere gramfeste Bakterien, wie Diphtherie, Pseudodiphtherie, Subtilis, Milzbrand, Actinomyces und Bulgaricus, werden gleichfalls durch die stark dissoziierte Salzsäure unter den verschiedensten Versuchsbedingungen (S. 257) gramfrei. Auch Alkalilaugen (0·04n bis $^{n}/_{2}$-Kalilauge) führen bei Aureus, Mycoides und Hefe diese Umwandlung herbei (S. 258 bis 260); $^{n}/_{1}$-Soda- und Pottaschelösungen sind in Anbetracht ihrer geringeren OH-Konzentration schwächer. In der Wirkungsweise der Alkalikarbonate bestehen zwischen Hefe einerseits und Aureus nebst Mycoides andererseits Unterschiede. Hefe wird durch die Karbonate mehr oder weniger schnell gramfrei, während unter den gleichen Versuchsbedingungen Aureus und Mycoides nur schwach oder fast unmerklich beeinfußt werden. Im Gegensatze zu Hefe, Mycoides und Aureus werden Diphtherie, Pseudodiphtherie und Subtilis durch 0·04- bis 0·18n-Kalilauge ziemlich unverändert gelassen, nur Actinomyces und Bulgaricus nehmen die rote Fuchsinfarbe an (S. 260 u. 261). Wie Versuche mit dem gramfreien Colibacillus zeigen (S. 262 bis 291), wird derselbe durch Salzsäure, Kalilauge und Alkohol im wesentlichen nicht verändert, doch hat es den Anschein, als ob er durch diese Agenzien einheitlicher rotgefärbt wird; die vor der Behandlung schwach oder undeutlich gramfest gefärbten Stäbchen sind fast ganz verschwunden. Lösungsmittel, wie Alkohol, Azeton, auch Wasser (S. 264 bis 269) wirken bei höherer Temperatur von etwa 65° an in der Weise auf Hefe, Mycoides und Aureus, daß die Zellsubstanz nicht mehr die gramfeste Färbung annimmt. Diese Wirkung ist mit größter Wahrscheinlichkeit der Hydroxyl- oder einer analog zusammengesetzten Atomgruppe der genannten Lösungsmittel zuzuschreiben; im Verein mit der höheren Temperatur leiten die Lösungsmittel eine Hydrolyse der die Gramfärbung bedingenden Zellstoffe ein; daß es hierbei zu einer Abspaltung und folgenden Herauslösung von fettähnlichen Stoffen (z. B. Lipoidverbindungen) kommt, ist anzunehmen.

Es gibt chemische Verbindungen einfacherer und komplizierterer Zusammensetzung, welche sich bei der Gramfärbung unter den in dieser Arbeit angewandten Versuchsbedingungen deutlich verschieden verhalten: teils gut gramfest, teils weniger bis gramfrei (S. 284 bis 290). Zu den gramfesten Stoffen sind Hefennuklein und Hefennukleinsäure zu rechnen,



eine Mittelstellung nehmen Hühnereiweiß und Kasein ein, während Kieselgur nach der gramfreien Seite neigt; Quarzsand, feinstens zerrieben, bleibt so gut wie ungefärbt, desgleichen Pepton. Auch A. Fischer fand, daß die basischen Farbstoffe, wie Fuchsin, Safranin, Gentiana u. ä., gegenüber dem „Platinpepton“ (durch Fällen mit Platinchlorid erhalten) in ihrer Färbekraft stark gehemmt sind. Nicht nur Nuklein und Nukleinsäure nehmen die Gramfarbe an, sondern auch Zellkerne. So färben sich die Kerne der Zungenepithelien, ferner bei den Erbsenkeimen Kernkörperchen, Chromatinkörnchen und Chromosomen gut gramfest. Von den Spermien des Stieres und des Menschen zeigen nur die letzteren eine ausgesprochene Neigung zur Gramfestigkeit, weniger im allgemeinen die Stierspermien.

Zur Klärung der etwas verwickelten Verhältnisse, die bei der Einwirkung von Salzsäure und besonders von Alkalien auf die Gramfärbung verschiedener Bakterien auftreten, sind die Beobachtungen von Levene und von Plimmer wichtig (S. 300). Levene fand, daß sich die purin- und pyrimidinhaltigen Komplexe der Hefennukleinsäure verschieden gegenüber dem hydrolysierenden Einflusse verdünnter Mineralsäuren verhalten: die pyrimidinhaltigen Komplexe werden schwieriger, d. h. weniger schnell hydrolysiert als die purinhaltigen. Plimmer konnte zeigen, daß Nukleinsäure und Nukleinproteine gegen Salzsäure wenig beständig sind, da sie langsam Phosphorsäure abspalten; viel beständiger sind die sog. Phosphoproteine gegenüber dieser Säure. Verschieden ist die Wirkung von Natronlauge auf Nukleinsäure; hier wird kein Phosphor aus dem Molekül herausgezogen. Und so nimmt die Hydrolyse der Nukleinsäure durch Natronlauge eine viel längere Zeit in Anspruch als die mit Salzsäure. Weiterhin für uns wichtig sind die Versuche Plimmers mit den einfachen Phosphorsäureestern: dem Glyzerophosphorsäureester, Phosphorsäureäthylester und der Hexosephosphorsäure; auch hier tritt eine verschiedene Wirkungsweise von Säure und Alkali in Erscheinung: Säuren wirken langsam hydrolysierend, Alkalien bleiben im allgemeinen ohne Wirkung; Hexosephosphorsäure dagegen wird durch Alkali schneller hydrolysiert als durch Salzsäure. Diese Unterschiede in dem Verhalten gegen Salzsäure und Alkali finden wir auch bei den von uns untersuchten Bakterien wieder. Manche hierbei gemachte Erscheinung, so z. B. das abweichende Verhalten von Hefe, Mycoides, Aureus, Actinomyces, Bulgaricus einerseits und Diphtherie, Pseudodiphtherie, Subtilis andererseits gegen Kali läßt sich durch die obigen Untersuchungen von Levene und von Plimmer erklären. Dieses übereinstimmende oder abweichende Verhalten im Reaktionsmechanismus führt uns dazu anzunehmen, daß das Wesen der Gramfestigkeit von Bakterien an das Vorhandensein be-



stimmter organischer chemischer Verbindungen im Zellleibe gebunden ist, diese organischen Verbindungen scheinen in das große, nur wenig durchforschte Gebiet der Nukleoproteide mit ihren verschiedenartigen, an dem Molekül hängenden Komplexen und Seitenketten zu gehören. Macht man diese Annahme, so lassen sich die meisten der hier und von anderer Seite gemachten Beobachtungen und Erscheinungen ziemlich zwanglos erklären: so der Einfluß von Säuren und Alkalien oder der von Alkohol, Azeton, Wasser bei höheren Temperaturen; H- und OH-Ionen treten hier in Wirksamkeit. Findet beispielsweise in manchen Fällen bei Anwendung von Kali keine oder schwache Wirkung statt, so läßt sich dies in ungezwungener Weise dahin deuten, daß es sich hierbei um festere oder anders geartete Kerngebilde handelt, ähnlich den pyrimidinhaltigen Kernen im Vergleiche zu den purinhaltigen.[1] Der Verlust der Gramfestigkeit ist dann auf eine Hydrolyse und Spaltung ester- oder glykosidartiger, primär noch nicht erfaßter Nukleoproteidverbindungen zurückzuführen, deren Spaltstücke gramfrei sind.[2] Unter dieser Voraussetzung sind auch Zwischenstufen in den Gramverhalten der Spaltstücke denkbar: je nach der Art der Komplexe und Seitenketten in den Nukleoproteidverbindungen und je nach der chemischen Zusammensetzung der Spaltstücke werden sich diese mehr oder weniger nach Gram färben lassen; als Beispiel hierfür können die Färbungsverhältnisse bei den Stierspermien dienen.

Meine Ansicht, daß die Gramfestigkeit von Bakterien auf einen Gehalt gramfester Nukleoproteide oder nukleoproteidähnlicher Verbindungen im Zellleibe zurückzuführen ist, konnte bei der Bedeutung dieser Frage wesentlich gestützt und sichergestellt werden, wenn der Nachweis gelänge, daß der Bakterienleib faßbare grambeständige Stoffe enthält; solche Stoffe mußten sich auch nach Zertrümmerung der Bakterienzelle als gramfest erweisen, falls chemische Eingriffe hierbei vermieden wurden. Dazu eignete sich in ausgezeichneter Weise die wohlbekannte Buchnersche Methode der Zymasegewinnung durch Zerreiben des Zellenmaterials mittels Quarz-

[1] Wie weit sekundäre Einflüsse fördernd oder hindernd hier mitspielen, muß bei dem augenblicklichen Stande der Eiweißchemie unerörtert bleiben.

[2] Es sei mir gestattet, meiner Auffassung über das chemische Verhalten des Zellkernes Ausdruck zu verleihen. Meine Ansicht geht dahin, daß im entwicklungsfähigen Zellkerne die in ihm enthaltenen Nukleoproteid- und ähnlichen Verbindungen die Fähigkeit besitzen müssen, mit Wasser aufzuquellen. Unter dieser Voraussetzung sind dann diese Nukleinverbindungen imstande, vielleicht mit Hilfe von geringen Mengen Salzen, chemische Reaktionen einzugehen, welche von einem Abbau und folgenden Aufbau (Synthese) bestimmter organischer Verbindungen begleitet sind. Man könnte sich dann den entwicklungsfähigen Zellkern als eine mikrochemische Fabrik auf- und abbauender Nukleinverbindungen vorstellen.

sandes und Kieselgur. Chemische Einflüsse waren hier ausgeschlossen, eine Beeinflussung des Bakterienmaterials beim Zerreiben desselben mit Sand und Kieselgur durch Erwärmung des Gemisches war nach den Versuchen von Macfadyen und seinen Mitarbeitern denkbar und bei der Beurteilung der erhaltenen Ergebnisse zu berücksichtigen. Nach den Beobachtungen derjenigen Forscher, welche sich mit der Zymasegewinnung beschäftigt haben, konnte eine Schädigung des zerriebenen Gemisches durch Erwärmung desselben nur quantitativer Art sein, nicht qualitativer. Durch diese Überlegungen geleitet, wurden Hefe und Mycoides nach dem Buchnerschen Verfahren behandelt.

## Färbung von Hefe und Mycoides nach dem Zerreiben mit Quarzsand und Kieselgur; Färbung des Buchnerschen Hefepreßsaftes nach Gram.

Über die Anordnung der Versuche ist folgendes zu sagen. Das Zerreiben mit Quarzsand und Kieselgur und die übrigen Operationen wurden, soweit Hefe in Frage kam, genau nach der Vorschrift von Buchner vorgenommen; es erübrigt sich daher, näher darauf einzugehen. Das Mischungsverhältnis von Quarz und Kieselgur betrug bei Hefe wie bei Mycoides 1:0·3 (nach Buchner). An Hefe wurden für die Zymasegewinnung 500 g frische und abgepreßte Brauereihefe von Riebeck & Co., Leipzig, in Arbeit genommen; der Direktion derselben und insbesondere Herrn Chefchemiker Singewald für die so bereitwillige Überlassung der in den Kriegszeiten wertvollen Hefematerialien bin ich zu Dank verpflichtet.

Mycoides wurde für die Versuche 2 mal auf Agar übergeimpft; bei der einen Versuchsreihe wurde das Material vorher mit destilliertem Wasser zentrifugiert, bei der anderen, wo größere Mengen zur Verwendung gelangten, unterließen wir diese Vorbehandlung.

Quarzsand wurde durch Salzsäure und Waschen mit Wasser gereinigt und geglüht, Kieselgur (Präparat des Hygienischen Instituts) fand ohne weiteres Verwendung.

Der nach Buchners Vorschrift gewonnene Hefepreßsaft wurde in 4 Fraktionen gesondert aufgefangen; Gewicht des vereinigten Preßsaftes = 119 g. Die einzelnen Fraktionen des Preßsaftes wurden auf ihre Gramfärbbarkeit in der Weise untersucht, daß wir Proben in dünner Schicht auf Deckgläser verteilten und sie $^1/_4$ Stunde an der Luft antrocknen ließen. Zur Prüfung auf Gärtüchtigkeit setzten wir auch eine Probe mit dem aus den 4 Fraktionen vereinigten Preßsafte an, nachdem er 1 Tag bei 5 bis 10° gestanden hatte. Es wurden hierzu 2 Einhornsche Gärröhrchen benützt; in das eine kam eine Lösung von 8 g Rohrzucker in 20 ccm Hefepreßsaft (= 7 ccm etwa), in das andere nur Preßsaft. Nach Zusatz von je 2 Tropfen Toluol und Verschluß der offenen Schenkel mit Quecksilber wurden die Röhrchen einer Temperatur von 20 bis 23° ausgesetzt. In dem Röhrchen mit dem Zuckerhefesaft begann sehr bald eine ziemlich stürmische Gärung; schon nach etwa



4 Stunden wurde der größte Teil der Gärflüssigkeit in das Kugelröhrchen getrieben; die Gärung setzte auch dann noch weiter fort, wogegen das Kontrollröhrchen nach Verlauf nach 6 und mehr Stunden im geschlossenen Schenkel nur geringfügige Schaumbildung zeigte. Die Gärtüchtigkeit des gewonnenen Hefepreßsaftes war damit erwiesen.

Der Preßrückstand von der Zymasedarstellung wurde zum Schlusse langsam auf etwa 250 Atm. Druck ausgepreßt; von diesem Rückstand wurden ebenfalls Deckglasproben in der obigen Weise angefertigt und nach Gram gefärbt.

Es sei noch bemerkt, daß alle für die Hefesaftgewinnung notwendigen Operationen hintereinander ausgeführt wurden. Färbungsversuche wurden auch mit lose durchmischtem Bakterienmateriale angestellt. Hierzu wurden Quarzsand und Kieselgur im bekannten Verhältnisse von 1 : 0·3 im Mörser feinstens zerrieben, dann Hefe (etwa 1 g) bzw. Mycoides hinzugegeben, und das Ganze lose und unter gelindem Druck mit Hilfe eines Nickelspatels verteilt. Nachdem davon Proben mit wenig Wasser auf Deckgläser verteilt waren, wurde die Bakterienmischung dann mit Pistill im Mörser $^1/_2$ und $1^1/_2$ bis 2 Stunden kräftig zerrieben und gleichfalls zu Färbversuchen benutzt.

Von Färbemethoden kamen die folgenden in Betracht:

a) je 1 Min. und $^1/_4$ Min. tröpfeln
b) ,, 1 ,, ,, $^1/_2$ ,, ,,
c) ,, 1 ,, ,, $^1/_2$ ,, ohne Tröpfeln.

a) b) und c) wurden bei Hefe, a) und c) bei Mycoides angewendet. Es folgen die Ergebnisse.

## Hefe.

Die im Mörser mit Pistill kräftig zerriebene Bakterienmischung (im Gewichte von 1 bis 2 g) zeigte keine unversehrte Zellen mehr, nur noch größere, kleinere und kleinste Zellstücke, von denen sich ein guter Teil gramfest verhielt, während der andere sich in Abstufungen bis zu Rot (auch in Form von feinem Gerinnsel) färben ließ. Kieselgur war hier wie in früheren Fällen rosa, rot und bläulichrosa gefärbt, Quarzsand fast farblos, nur peripherisch etwas schwach bläulich oder rötlich.

Der Augenschein lehrte deutlich, daß in der Hefezelle eine Substanz enthalten ist, welche Trägerin der Gramfestigkeit ist. Sowohl bei derartigen Hefemischungen als auch bei den mit Mycoides, kann man die Beobachtung machen, daß ein Teil des mikroskopischen Bildes tiefblau und blau erscheint, der andere dagegen mehr oder weniger den rötlichen Ton besitzt. Das sind nicht Zufälligkeiten, welche dem Färbeprozesse anhaften, sondern diese Farbenunterschiede sind, wie viele Versuche gelehrt haben, darauf zurückzuführen, daß die gelösten und die ungelösten Anteile des Präparates beim Antrocknen sich ganz nach ihrer physikalischen Beschaffenheit auf dem Deckglase gruppieren.





Bei der Durchmusterung der eben geschilderten Präparate findet man keine Anhaltspunkte für die Bestätigung der Fischerschen Hypothese, daß die Gramfärbung sich nach der Korngröße richtet oder daß die substanzreicheren Partikelchen durchschnittlich die Gramfärbung länger behalten als substanzärmere.

Die Versuche mit dem lose durchmischten Materiale zeigen, daß bei sorgsamer und feiner Verteilung des Präparates auf dem Deckglase sich keine Unterschiede in der Färbung bemerkbar machen. Bezüglich der Versuche mit größeren Mengen Hefemischung (im Gewichte von 500 g) beobachtet man u. a. farblose, inhaltsleere Zellen; es hat den Anschein, als ob die den Zellinhalt umschließende Membran die Eigenschaft besitzt. das Herauslösen der Gramfarbe bei der Behandlung mit Alkohol zu verlangsamen. Das mikroskopische Bild des Preßrückstandes von der Zymasedarstellung unterscheidet sich nicht erheblich von dem der vorigen Mischung. Auch hier beobachtet man farblose, fast inhaltsleere Zellen, welche durch schwarzblaue oder dunkelrote Differenzierungen ausgezeichnet sind.

Übersichtlicher sind die mikroskopischen Bilder, welche man bei der Färbung der vier Fraktionen des Preßsaftes erhält. Alle vier zeigen feinstes und gleichmäßig verteiltes Gerinnsel; der kleinere Teil davon ist gramfest (tiefblau bis schwarzblau), der größere gramfrei.[1] Mithin gehen auch in den Hefepreßsaft gramfeste Bestandteile des Zellinhaltes über. Dies ist eine weitere Stütze für die Annahme, daß es eiweißartige Substanzen und insbesondere Nukleoproteidverbindungen sind, welche die Gramfestigkeit der Hefe bedingen. Irgendwie wesentliche Unterschiede im Färbeverhalten der einzelnen Fraktionen waren nicht zu erkennen; dagegen zeigte sich der 4 Wochen alte Preßsaft verändert; es war nur rotes, rötliches oder höchstens bläulichrotes Gerinnsel zu sehen. Dies ist nach den in dieser Arbeit gemachten Erfahrungen auf eine allmählich einsetzende chemische Umwandlung der gramfesten Bestandteile des Preßsaftes bei der Aufbewahrung zurückzuführen.

### Mycoides.

Die Versuche lassen klar und deutlich erkennen, daß auch Mycoides nach dem Zerreiben mit Quarzsand und Kieselgur zwei verschieden färbbare Bestandteile besitzt, einen gramfesten und einen gramfreien. Man sieht guterhaltene gramfeste Teile von Stäbchen, welche durch den Quarz-

[1] Hefepreßsaft enthält ziemliche Mengen Kieselsäure, welche von der benutzten Kieselgur herrühren (Wróblewski, Buchner, Zymasegärung. S. 71).



sand glatt quer durchschnitten sind. Die der Mycoideskultur anhaftende Schleimsubstanz neigt offensichtlich nach der gramfreien Seite, desgleichen Kieselgur (vgl. oben), während die Quarzstückchen, auch die kleinsten Splitterchen, fast ungefärbt sind.

---

Im Zusammenhange mit obigen und anderen Versuchen dieser Arbeit stehen folgende Untersuchungen, welche an dieser Stelle besprochen werden mögen: E. u. H. Buchner und M. Hahn,, Die Zymasegärung, A. Wróblewski, Über den Buchnerschen Hefepreßsaft und Kruse, Bürgers, Scheimann und Schreiber, Beziehungen zwischen Plasmolyse, Verdaulichkeit, Löslichkeit und Färbbarkeit von Bakterien; Auflösungserscheinungen von Bakterien.

Daß Enzyme und Zymase, wie Buchner und Hahn (S. 230, Zymasegärung) fanden, durch Alkohol und noch viel stärker durch Methylalkohol, dem Anfangsgliede der homologen Reihe der Alkohole, geschädigt werden, findet durch die Versuche vorliegender Arbeit (S. 265 u. ff.) seine Erklärung: die eiweißartigen Stoffe (Nukleoproteid- und ähnliche Verbindungen) werden, soweit Äthylalkohol in Betracht kommt, durch die OH-Gruppe chemisch verändert und zwar stärker als durch Äther, welcher indifferenter zu sein scheint; aus diesem Grunde ist von Buchner, Hahn und Rapp zur Abtötung der Hefezellen bei der Gewinnung von Dauerhefe ein Gemisch von Alkohol (oder Azeton nach Rapp) mit Äther erfolgreich benutzt worden. Über das chemische und physikalische Verhalten dieser Hefeeiweißstoffe erfahren wir von Wróblewski manches Wichtige. Er stellte fest, daß die Gärkraft der Zymase durch Zusätze von ganz kleinen Mengen Salzsäure oder Essigsäure (schon bei 0·05 Prozent) verringert wird; Natronlauge (bei etwa 0·1 Prozent) erhöht dieselbe (durch Bildung von Phosphaten? Verf.), bei einem Gehalte von 0·2 Prozent verschwindet die Fermentation. Auf Grund dieser und anderer Beobachtungen kommt Wróblewski zu dem Schlusse: „Die vergärende Wirkung der Zymase ist ohne Zweifel ein chemischer Prozeß; demnach sind alle Einwirkungen, welche denselben modifizieren, chemische Wirkungen. Wir sind demnach berechtigt, zu sagen, daß Säuren, Basen, Phosphate, neutrale Salze, Formalin, Nitrite, salpetrige Säure, Alkohol und sogar Wasser beim Verdünnen des Saftes chemisch auf die Zymase wirken.“ Wichtig für uns ist, daß nach Wróblewski im Hefepreßsafte hühnereiweißähnliche Stoffe vorhanden sind, welche sich durch eine verschiedene Koagulationstemperatur auszeichnen; von den Eiweißarten der Zymase wurde die eine bei etwa 42°, eine zweite bei 47°, eine dritte bei 60 bis 65° und eine vierte bei 73 bis 78° gefällt; beim Erhitzen der Zymase über 70° (etwa) hinaus



wurden nur geringe Mengen Proteinstoffe niedergeschlagen. Wir haben es also hier mit zwei oder mehreren, vielleicht noch nicht ganz reinen eiweißartigen Stoffen von verschiedener Koagulationstemperatur zu tun.

Ein ähnliches Verhalten gegen Temperatureinflüsse zeigen Bakterien bei der Selbstverdauung, bei der Verdauung mit Trypsin und Pepsin und gegen Kalilauge nach den Untersuchungen von Kruse, Bürgers, Schermann und Schreiber. Bei der Verdauung in physiologischer Kochsalzlösung werden die durch Hitze vorher abgetöteten Bakterien durchschnittlich nicht aufgelöst, ausgenommen Meningokokken und Milzbrandbazillen; bei Prodigiosus tritt nach Erhitzung auf 60° keine Auflösung ein, dagegen bei höherer Temperatur und besonders bei 100°. Die Trypsinverdauung, der die gramfreien Bakterien im Gegensatze zu den gramfesten erliegen, läßt gleichfalls auffallende Unterschiede bezüglich der Temperaturhöhe erkennen: die auf 60° erhitzten gramfreien Bakterien wurden öfters durch Trypsin weniger angegriffen als die auf 100° erhitzten. Gleiche Erscheinungen traten auch mit Pepsinsalzsäure auf. Nicht erhitzte Bakterien wurden gar nicht oder nur wenig von Pepsin angegriffen; bei vorher erhitztem Material machten sich zwischen gramfesten und -freien Bakterien Unterschiede bemerkbar: die festen wurden gar nicht angegriffen. dagegen die freien sehr und zwar die auf 100° erhitzten mehr als die auf 60°. Noch augenfälliger wird das Bild bei der Einwirkung von 1prozentiger Kalilauge auf gramfreie Bakterien; hier spielt in eigenartiger Weise die Höhe der Temperatur, die vorher angewandt wurde, eine Rolle. Bei vielen dieser gramfreien Bakterien war die Auflösung dann am größten, wenn sie vorher nicht erhitzt waren, und am schwächsten, wenn die Temperatur vorher auf 100° gesteigert war; einen mittleren Grad der Auflösung zeigten diese Bakterien nach Erhitzung auf 60°. In Übereinstimmung mit diesen Auflösungserscheinungen durch 1prozentige Kalilauge bei 37° ist der mikroskopische Befund: die unerhitzten Bakterien zeigen nach der Kalibehandlung Gerinnsel, Detritus und andere Zerfallserscheinungen, die auf 60° erhitzten weniger und am geringsten bei den auf 100° erhitzten. Lassen sich nicht die von Kruse und seinen Mitarbeitern aufgefundenen Unterschiede am besten auf einen Gehalt verschiedenartiger komplizierter Eiweißsubstanzen in den Bakterienzellen zurückführen? Auch Wróblewski hat es durch seine Versuche wahrscheinlich gemacht, daß in der Zymase eiweißartige Substanzen enthalten sind, welche einen verschieden hohen Koagulationspunkt besitzen. Kennen wir doch seit langem schon den Bence-Joneseiweißkörper (Harneiweiß von Bence-Jones), welcher bei 50 bis 58° koaguliert, um sich bei höherer Temperatur oder auch beim Abkühlen unterhalb 50° wieder zu lösen!



Nehmen wir in den gramfesten und gramfreien Bakterien verschiedenartige hochkomplizierte Eiweißstoffe (in die große Klasse der Nukleoproteid-, Lezithid- und ähnlicher Verbindungen gehörig) an, so lassen sich alle diese beobachteten Unterschiede ziemlich ungezwungen erklären; die Unterschiede werden dadurch hervorgerufen, daß die Nukleinverbindungen in den Bakterienzellen chemisch verschieden gebaut sein können, gegen Agenzien sich verschieden verhalten können, eine verschiedene Koagulationstemperatur besitzen u. a. m.; daher ist es auch einleuchtend, daß manche Bakterien durch Salzsäure chemisch schneller, manche wieder durch Kalilauge verändert werden, andere wieder leichter P abspalten usw.

## Zur Frage der Färbungstheorien unter Berücksichtigung der Färbung nach Gram.

Bei den so zahlreichen Färbeversuchen nach Gram in dieser Arbeit drängt sich auch die Frage auf, welcher der verschiedenen Färbungstheorien man den Vorzug geben könnte. Bekanntlich gibt es hier zwei Richtungen: die eine, welche die Färbung als Adsorptionserscheinung (ein entschiedener Vertreter ist A. Fischer) auffaßt, und die andere, welche den Färbeprozeß als auf Salzbildung beruhend ansieht. Es sind dies zwei Anschauungen, welche ihrem Wesen nach sich scharf gegenüberstehen. Eine recht übersichtliche Zusammenstellung der bis jetzt bekannt gewordenen Theorien ist 1913 von Sisley erschienen, welche hier wiedergegeben werden soll. Da er in seinem Aufsatze auf Unnas Darlegungen nicht eingeht, so mögen sie an dieser Stelle noch einmal kurz angeführt werden (vgl. S. 242). Unnas Ansicht geht dahin, daß bei der Gramfärbung die Jodfarbstoffverbindung mehr oder weniger stark an das Gewebe (organische) gekettet wird je nach der chemischen Verwandtschaft des betreffenden Gewebes zu dem Jodfarbstoffe. Sisley führt als erste die Wittsche Theorie der festen Lösung an, wonach die Färbungen als feste Lösungen von Farbe in der Fasersubstanz aufgefaßt wird. Auf folgender Überlegung beruht diese Theorie. Bringt man den in einer Flüssigkeit gelösten Farbstoff auf die Faser, so wird die Faser dauernd gefärbt, falls der Farbstoff in der Fasersubstanz löslicher ist als in der Flüssigkeit, in welcher er vorher gelöst war; ist die Löslichkeit des Farbstoffes in der Flüssigkeit größer als in der Faser, so wird Entfärbung eintreten. Krafft denkt sich die Färbung als eine Fällung kolloidaler Salze auf die Oberfläche oder ins Innere der Faser (sogen. Theorie der Färbung durch kolloïdale Fällung). Folgendes Beispiel, welches zur Begründung dieser Theorie angeführt wird, dürfte auch für uns von Interesse sein. Glimmer (also ein Aluminiumsilikat) färbt sich in der warmen Lösung eines Handelsfarbstoffes, des Diaminschwarz BH nicht an, dagegen sehr stark nach Zusatz von Kochsalz; die Färbung ist dann wäschebeständig. Eine andere Färbungstheorie, welche nach Sisley manche Erscheinung gut erklären kann, jedoch nach seiner Ansicht noch nicht ausreichend gesichert erscheint, ist die elektrische, wonach die Farbstoffe und die Faser beim Färben den



Regeln der Kontaktelektrisierung folgen; die elektrische Leitfähigkeit der Farbstoffe in Lösung ist mit Sicherheit festgestellt worden. Sisley selbst neigt einer physiko-chemischen Färbetheorie zu. Da die chemischen Funktionen der Textilfasern bei den Färbevorgängen eine Rolle spielen, so ist er der Ansicht, daß der Farbstoff eine Molekularassoziation mit der Faser bilde.

In vorliegender Arbeit ist zu den Versuchen nur ein einziger Farbstoff, das Gentianaviolett, benutzt worden. Aus diesem Grunde kann die Ansicht, die ich mir von dem Färbeprozesse gebildet habe, zunächst nur für die Gramfärbung Gültigkeit beanspruchen. An anderer Stelle dieser Arbeit habe ich darauf hingewiesen, daß es unter den chemischen Verbindungen und Substanzen teils gramfeste teils gramfreie gibt, teils auch solche, welche eine Mittelstellung zwischen diesen einnehmen, ferner auch solche, welche überhaupt keine oder nur ganz schwache Färbung annehmen (unter den in dieser Arbeit gewählten Versuchsbedingungen!).

Zu den gramfesten Verbindungen gehören Nuklein, Nukleinsäure, auch das von Tamura entdeckte Mykol; zu den gramfreien (welche also die Fuchsinfärbung annehmen) sind zu rechnen: Kieselgur, gewisse Umwandlungsprodukte von Nukleinverbindungen u. a.; eine Zwischenstellung zwischen gramfest und gramfrei nehmen Hühnereiweiß und Kasein ein, während Quarzsand, auch Pepton, die Gegenfärbung mit Fuchsin so gut wie gar nicht zeigen. Da nun auch gramfeste Bakterien, denen ganz gewiß gramfest färbbare Zellsubstanzen eigen sind, durch Säuren, nicht so regelmäßig durch Alkalilaugen, in gramfreie übergeführt werden können, so wird man alles dieses so zu deuten haben, daß der Färbeprozeß bei der Gramreaktion abhängig ist in erster Linie von der chemischen Zusammensetzung des Substrates, in zweiter Linie in bestimmten Fällen von der physikalischen Beschaffenheit des Substrates, einem mehr oder minder großen Substanzreichtum des Substrates nach A. Fischer. Als einfachstes und sinnfälligstes Beispiel für meine Auffassung möchte ich das Verhalten tierischer und pflanzlicher Fasern gegen Kalilauge und gegen Farbstoffe anführen. Seide und Baumwolle, zwei chemisch durchaus verschiedene Substanzen, welche bei mikroskopischer Vergrößerung als glatte Fasern von etwas verschiedener äußerer Form erscheinen, zeigen wie bekannt ein verschiedenes Verhalten gegen Kalilauge und gegen Fuchsinlösung. Seide löst sich in kochender 8prozentiger Kalilauge auf, Baumwolle nicht oder nur wenig; Seide wird durch alkoholische Fuchsinlösung dauernd gefärbt, Baumwolle nicht. Stellen wir diesem noch die Farbeigenschaften von Quarzsand, Pepton und Nuklein entgegen! Quarzsand rein anorganisch, Pepton und Nuklein rein organisch, aber beide chemisch doch ganz verschieden zusammengesetzt! Die erste Verbindung



nimmt weder Gramfarbe noch Gegenfärbung mit Fuchsin an, ebenso die zweite, das Pepton, während die dritte Verbindung, das Nuklein, die reine Gramfarbe behält.

Was ist natürlicher als anzunehmen, daß die chemische Substanz des Substrats in erster Linie für den Ausfall der Gramreaktion maßgebend sein muß! Ich kann mich danach nur der bereits angegebenen chemischen Färbungstheorie von Unna anschließen, und zwar mit der auch von diesem Forscher erhobenen Einschränkung, daß manche Färbungsunterschiede auch auf physikalische Ursachen zurückgeführt werden können.

## Zusammenfassung.

Der Ersatz des Jodjodkaliums durch Jodwasser bei der Gramreaktion ruft bei Hefe und Mycoides die charakteristische Gramfarbe hervor, während es bei Aureus nur bis zu einem Dunkelblautone kommt; Bromwasser und Chlorwasser an Stelle des Jodwassers bewirken eine von Br zu Cl zunehmende Aufhellung des Schwarzblaus. Es ist anzunehmen, daß sich hierbei brom- bzw. chlorhaltige Farbstoffverbindungen des Karbolgentianavioletts bilden.

Die Umwandlung der gramfesten Bakterien Aureus, Mycoides und Hefe in gramfreie durch Säuren vollzieht sich gemäß ihrem Dissoziationsgrade: die am stärksten dissoziierten Säuren bewirken die Umwandlung schneller als die mittelstarken, diese wiederum schneller als die schwachen Säuren. Erhöhung der Konzentration der Säure und Erhöhung der angewandten Temperatur beschleunigen die Reaktion.

Messende Bestimmungen zeigten deutlich, daß die Umwandlung gramfester Hefe in gramfreie abhängig ist von dem Dissoziationsgrade der benutzten Säure, von der Reaktionstemperatur und von der Säurekonzentration; danach kennzeichnet sich dieser Umwandlungsprozeß als ein chemischer Vorgang.

Auch andere gramfeste Bakterien, wie Diphtherie, Pseudodiphtherie, Subtilis, Milzbrand, Actinomyces, Bulgaricus werden durch Säuren bei geeigneter Konzentration und geeigneter Temperatur gramfrei.

Eine Ausnahme in der Reihe der untersuchten Säuren macht die Milchsäure; eine eingehendere Prüfung der hier obwaltenden Verhältnisse ist erst erforderlich, um zu einem abschließenden Urteile zu gelangen.

Aureus, Mycoides und Hefe werden durch Kalilauge bei geeigneter Konzentration und Temperatur gramfrei; von anderen gramfesten Bakterien, wie Diphtherie, Pseudodiphtherie, Subtilis, Milzbrand, Actinomyces und



Bulgaricus wurden nur Actinomyces und Bulgaricus unter den obwaltenden Versuchsbedingungen durch Kalilauge gramfrei.

Von den organischen Lösungsmitteln sind die chemisch differenten, wie Alkohol, Azeton dadurch ausgezeichnet, daß sie unter geeigneten Versuchsbedingungen Aureus, Mycoides und Hefe gramfrei machen; je höher die hierbei angewandte Temperatur ist, desto schneller vollzieht sich — bei einem und demselben Lösungsmittel — diese Umwandlung; begünstigt wird sie auch durch einen noch nicht genauer festgestellten Gehalt des Lösungsmittels an Wasser. Wasser allein von etwa 97° wirkt in analoger Weise bei Hefe, schwächer bei Mycoides und gar nicht bei Aureus, wenn als Vergleichsdauer $1^1/_2$ Stunden zugrunde gelegt werden.

Der Einfluß der chemisch indifferenten Lösungsmittel (Benzin, Benzol, Toluol) auf die Gramfestigkeit ist unerheblich, wenn annähernd gleiche Versuchsbedingungen wie bei den differenten Lösungsmitteln eingehalten werden; die Einwirkung nimmt aber zu bei Steigerung der Temperatur und mit der Dauer des Versuchs.

An mehreren Beispielen konnte gezeigt werden, daß das übliche Fixierungsverfahren von Deckglaspräparaten mittels kurzen Durchziehens durch die Bunsenflamme die Gramfestigkeit von Bakterien beeinträchtigen kann — eine Beobachtung, die von manchem Bakteriologen gemacht worden ist.

Die Reichertsche Versuchsanordnung ist nicht frei von Fehlern: vor allem ist die Benutzung feuchten Bakterienmaterials bei Brutschranktemperatur zu beanstanden. Es treten da autolytische Vorgänge im Zellleibe ein, welche schon an und für sich die Gramfestigkeit beeinträchtigen können. Die Umwandlung der gramfesten Bakterien durch Tetrachloräthylen ist auf die Wirkung der Salzsäure zurückzuführen, welche bei Anwesenheit schon geringster Spuren von Feuchtigkeit abgespalten wird.

Mit arabischem Gummi emulgierte Fette von verschieden großer Jodzahl, wie Leinöl, Hammeltalg und Lanolin lassen sich nicht gramfest färben: ein Zusammenhang zwischen Jodzahl und Gramfärbbarkeit besteht danach nicht.

Bei den Verdauungsversuchen mit Aureus, Mycoides und Hefe wurden die Beobachtungen von Kruse und seinen Mitarbeitern bestätigt. Im einzelnen ergab sich folgendes:

Aureus. Die Kokken wurden bei den Verdauungsversuchen durch physiologische Kochsalzlösung, durch Trypsin und Pepsin-Salzsäurelösung nur wenig oder gar nicht in ihrer Gramfestigkeit beeinträchtigt.

Agarkulturen von Aureus werden mit zunehmendem Alter gramfrei.

Mycoides. Sein Verhalten bei den Verdauungsversuchen gleicht im allgemeinen dem Aureus; nur physiologische Kochsalzlösung scheint die Gramfestigkeit des Mycoides erheblich zu schädigen. — Mycoides löst sich nach einer bestimmten Zeit sowohl in Salzsäure als auch in Kalilauge zum Teil auf; es entstehen Lösungen kolloidaler Natur. Aus den kalihaltigen Lösungen werden die Stäbchen durch Ansäuern in ihrer charakteristischen Form wieder gewonnen, aus den salzsäurehaltigen dagegen nach Zusatz von Kali nur unvollkommen oder gar nicht, da das Bakterienmaterial in diesem Falle mehr oder weniger je nach der Länge der Einwirkung der angewandten Salzsäure formlose Haufen bildet.

Ältere Agarkulturen von Mycoides wurden wie die von Aureus mit der Zeit gramschwächer.

Hefe. Hefe scheint bei den Verdauungsversuchen mit physiologischer Kochsalzlösung, Trypsin- und Traubenzuckerlösung (1 Prozent) schwieriger in ihrer Gramfestigkeit beeinflußt zu werden als Aureus und Mycoides. Auflösungsversuche von Diphtherie, Pseudodiphtherie, Subtilis, Milzbrand und Actinomyces in Salzsäure und in Kalilauge bestätigen die von Kruse und seinen Mitarbeitern an gramfesten Bakterien gemachten Beobachtungen. — Jobling und Petersen fanden, daß der Gehalt der Bakterien an ungesättigten Lipoidverbindungen proportional sei dem Widerstande der Bakterien gegen die Trypsinverdauung. Da nach der Versuchsanordnung von Jobling und Petersen ein lang andauerndes Erhitzen des Bakterienmaterials mit organischen Lösungsmitteln (besonders Alkohol) stattfand, so ist nach dem Versuchsmateriale vorliegender Arbeit anzunehmen, daß hierbei die Zellbestandteile eine chemische Änderung erleiden und dadurch weiteren chemischen Angriffen leichter zugänglich gemacht werden; dieser Umstand wäre in erster oder zweiter Linie zur Erklärung für die geschwächte Widerstandskraft der Bakterien gegen tryptische Verdauung heranzuziehen.

Hühnereiweiß, Kasein, Schalenhaut des Hühnereies nehmen bei der Gramfärbung eine Zwischenstellung zwischen gramfrei und gramfest ein. Das färberische Verhalten ist etwas schwankend, besonders beim Eiweiß, was z. T. wohl auf seine amphotere Reaktion zurückzuführen sein wird; als eine andere Ursache ist in gewissen Fällen ein größerer Substanzreichtum des Substrats bei einem positiven Ausfalle der Gramreaktion anzunehmen — im Einklange mit der A. Fischerschen Hypothese. Im übrigen aber hat sich diese, soweit die Gramfärbung in Frage kommt, nicht bestätigen lassen: die Fischersche Hypothese (a. a. O., S. 116) besagt, daß „die Gramsche Methode, als rein physikalische, die mit .... Kalibichromat gefällte Albumose genau so nach Granulagröße sortiert wie die anderen sukzedaneen Doppelfärbungen. Immer widerstehen die großen

Granula der Entfärbung länger als die kleinen, die nunmehr kontrast gefärbt werden können." Das vorliegende Material hat jedoch gezeigt, daß bei den Chromatfällungen von Pepton Witte und gereinigtem Pepton Witte unterschiedslos einmal die großen Granula mehr entfärbt wurden als die kleineren, ein andermal die kleineren mehr als die größeren.

Nuklein und Nukleinsäure verhalten sich zum größten Teile gut gramfest. Durch Kalilauge wird Nukleinsäure und besonders Nuklein in gramfreiem Sinne beeinflußt. — Färbungsversuche mit Kieselgur zeigen deutlich, daß es chemische Subtsanzen gibt, welche ausgesprochen gramfrei sind; Quarzsand gehört zu den Verbindungen, welche so gut wie ungefärbt bleiben.

Die Zellkerne der Zungenepithelien (im jugendlichen Zustande) sind gramfest; durch Einwirkung von Salzsäure und Kalilauge tritt eine mehr oder weniger starke Umwandlung des Kernes nach der gramfreien Seite ein.

Nikitines Angabe, daß es möglich sei, gramfrei gewordene Bakterien durch Löfflers Beize gramfest zu machen, trifft nicht zu.

Bei den Zellkernen und Kernteilungsfiguren von Erbsenkeimen, welche durch 1prozentige Sublimatlösung oder Alkohol gehärtet waren, lassen sich Kernkörperchen, Chromatin und Chromosomen durchschnittlich gut gramfest färben.

Die mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Spermien vom Stiere und vom Menschen zeigen bei der Gramfärbung öfter eine blassere Färbung als die mit Wasser behandelten.

Die Stierspermien sind durchschnittlich blasser nach Gram gefärbt als die des Menschen; nur der dem Halse anliegende schmal begrenzte Teil des Kopfes (bei den Stierspermien) ist ziemlich regelmäßig gut gramfest; das Verbindungsstück ist oftmals durch dunklere Punktierungen ausgezeichnet. Die Einwirkung von Salzsäure auf die Spermien vollzieht sich in der Weise, daß der Kopfinhalt nach kurzer Zeit herausgelöst wird, wobei Kopfhülse und Schwanzteil erhalten bleiben; Kalilauge wirkt in der Weise, daß der Schwanzteil fortgelöst wird, während der Kopfinhalt unangetastet bleibt. Durch Kalilauge wird die Blau- und Blaßblaufärbung des Kopfes bei einem Teile des Materials in Rot übergeführt. Der sich hierbei abspielende Chemismus scheint etwas verwickelter Natur zu sein.

Bei den menschlichen Spermien macht sich im allgemeinen eine gut gramfeste Färbung des Kopfes bemerkbar. An dem Verbindungsstücke treten öfter dunkle Punktierungen hervor. Wie bei den Stierspermien, so wird auch bei den des Menschen der Kopfinhalt durch Salzsäure herausgelöst, durch Kalilauge der Schwanzteil fortgelöst. Die gramfeste Färbung des Kopfes wird durch Salzsäure wie durch Kalilauge durchschnittlich gramfrei.



Nach den von Retzius gegebenen farbigen Abbildungen menschlicher Spermien zu schließen, entspricht die Starkgrünfärbung des Biondigemisches der Tiefe und dem Schwarzblau der Gramfärbung.

Da sich die Umwandlung der gramfesten Bakterien Aureus, Mycoides und Hefe durch Säure und Alkali als hydrolytischer Vorgang deuten läßt, und da es erwiesen ist, daß Nuklein, Nukleinsäure und gewisse nukleinhaltige organische Gebilde gramfest sind, so geht meine Ansicht dahin, daß die Gramfärbung bei den Bakterien durch bestimmte Zellinhaltsstoffe hervorgerufen wird, welche ja nach ihrem chemischen Baue durch Säuren und Alkali einer verschieden starken hydrolytischen Spaltung des Moleküls unterliegen. Auf Grund der färberischen Ergebnisse gehören die hier in Frage kommenden Zellinhaltsstoffe in das große, wenig erforschte Gebiet der kompliziert zusammengesetzten Nukleinverbindungen.

Die Ansicht über das Wesen der Gramfärbung wurde wesentlich gestützt durch Färbungsversuche mit Buchnerschem Hefepreßsafte, zerriebener Hefe und zerriebenem Mycoides mittels Quarzsands und Kieselgur; die Versuche ergaben mit Sicherheit, daß die Gramfestigkeit dieser beiden Bakterienarten durch gramfeste Zellsubstanzen hervorgerufen wird; mithin daß das Wesen der Gramfärbung auf chemischer und nicht auf physikalischer Grundlage beruht.

Von den Theorien, nach welchen sich die Gramfärbung am einfachsten erklären läßt, wird der chemischen von Unna der Vorzug gegeben und zwar mit der wohl zu beachtenden Einschränkung von Unna und Verfasser, daß manche Färbungsunterschiede auf physikalische Ursachen zurückgeführt werden können.

Durch die vorliegenden Untersuchungen werden die sich oft widersprechenden Literaturangaben über die Einwirkung von Säure, Alkali u. a. m. auf gramfeste Bakterien richtig gestellt.

Von den chemischen Untersuchungen über Nukleinverbindungen haben die von Levene, Plimmer und Scott und von Johnson und Chernoff für die vorliegende Arbeit Bedeutung; folgende Beobachtungen dieser Forscher können zur Erklärung mancher in vorliegender Arbeit festgestellten Erscheinungen bei der Einwirkung von Säure und Alkali auf gramfeste Bakterien, organische Gebilde, wie Zellkerne und ähnliche herangezogen werden: 1. Die Pyrimidinkomplexe sind im Vergleiche zu den Purinkomplexen widerstandsfähiger gegen den hydrolytischen Einfluß verdünnter Mineralsäuren; 2. Nukleinsäure und Nukleinproteine sind gegen Salzsäure weniger beständig als die sog. Phosphoproteine; 3. Nukleinsäuren verschiedener Herkunft werden durch $^{n}/_{1}$- und 2n-Natronlauge bei 75° bedeu-

tend langsamer hydrolysiert als durch $^{n}/_{1}$- und 2 n-Salzsäure unter den gleichen Bedingungen. Ebenso wie sich bei den Nukleinverbindungen Unterschiede in der Wirkungsweise von Säure und Alkali bemerkbar machen, so auch bei den gramfesten Bakterien und den untersuchten organischen Gebilden; auch sie werden durch Kali teils verändert teils gar nicht oder nur wenig beeinflußt. Zu den ersteren gehören Aureus, Mycoides, Hefe u. a., zu den letzteren Diphtherie, Pseudodiphtherie, Subtilis usw. Dagegen zeigen alle gegen Säuren eine geringe Widerstandskraft, die in vielen Fällen schwächer ist als bei Anwendung von Kali. Dieses mit den chemischen Eigenschaften von Nukleinsäuren übereinstimmende Verhalten läßt sich am besten so erklären, wenn man annimmt, daß in den Bakterienleibern und den anderen kernhaltigen Gebilden Nukleinverbindungen oder nukleinartige enthalten sind.

Ein ganz ähnliches Verhalten zeigen Säuren und Basen bei ihrer keimtötenden Wirkung auf Bakterien. Durch Paul und Krönig wissen wir, daß diese abhängig ist von dem Dissoziationsgrade. Es hat sich experimentell nachweisen lassen, daß die meisten Bakterien empfindlicher gegen Säuren sind als gegen Laugen. Hierin sehen wir eine gewisse Übereinstimmung gramfester Bakterien in ihrem Verhalten gegen Säuren und Basen bei der Gramreaktion. Auch die Gramfärbung wird, wie wir gesehen haben, in weit größerem Maße von Säuren beeinflußt als von Kalilauge. Ein vollständiger Parallelismus zwischen keimtötender Kraft und Beeinflussung der Gramfärbung durch Säuren und Alkali besteht jedoch nicht; während nämlich nach Paul und Krönig Flußsäure und Oxalsäure als schwache bis mittelstarke Säuren an keimtötender Kraft die stark dissoziierte Salzsäure übertreffen, bietet vorliegendes Untersuchungsmaterial keinen Anhaltspunkt für eine Ausnahmestellung genannter Säuren hinsichtlich ihres Einflusses auf die Gramfärbung.

Wenn Bakteriengiftstoffe in die Klasse der Nukleoproteidverbindungen gehören, wofür manche Angaben in der Literatur sprechen, so muß auf Grund vorliegender Versuche die Forderung erhoben werden, daß bei Abscheidung der Giftstoffe aus den Bakterienleibern nur möglichst indifferente (chemisch schwach wirkende) Reagenzien und möglichst niedrige Temperatur angewendet werden, wenn die Giftstoffe in unveränderter Form und in genügenden Mengen erhalten werden sollen.

Das Zentrifugieren von Bakterienaufschwemmungen im Wasser oder anderen wässerigen Flüssigkeiten liefert bisweilen keine einwandfreien Durchschnittsproben, auch nicht bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit der Zentrifuge von 3000 bis 3500. Die sicherste Probenetnahme bleibt die Methode, das gut durchmischte Durchschnittsmuster auf Deckgläser in



dünner Schicht zu verteilen, an der Luft antrocknen zu lassen und wenn möglich Wasserspülung vorzunehmen und dann erst nach Gram zu färben.

Die Gramreaktion hat sich als ein ausgezeichnetes diagnostisches Mittel bewährt, um Änderungen in der chemischen Zusammensetzung hochkomplizierter eiweißartiger Verbindungen zu erkennen und den Verlauf solcher Übergänge verfolgen zu können. Durch verschiedene kleine Änderungen in der Methode, wie sie aus dieser Arbeit ersichtlich werden, wird die Gramfärbung in manchen Fällen in der Hand des Geübten ein nicht zu unterschätzendes Hilfsmittel sein nicht nur für den Bakteriologen, sondern auch für den Zoologen, Biologen, Botaniker u.a.

## Literaturverzeichnis.

Abderhalden, *Physiologische Chemie*. 3. Aufl. 1914; *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 1912. Bd. LXXXI. S. 285.

R. und W., Albert, Chemische Vorgänge in der abgetöteten Hefezelle *Zentralbl. f. Bakt.* 2. Abtlg. 1901. Bd. VII. S. 737.

Albert, Buchner und Rapp, Dauerhefe. *Ber. d. Deutschen chem. Ges.* 1902. Bd. XXXV. S. 237.

Aronson, Zur Biologie der Tuberkelbazillen. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1910. Bd. XXXV. S. 1617.

Bittrolf und Momose, Beiträge zur Frage des granulären Tuberkulosevirus. *Robert-Koch-Stiftung.* 1913.

de la Blanchardière, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 1913. Bd. LXXXVII. S. 291.

Botazzi-Boruttau, *Physiologische Chemie.* Leipzig und Wien 1902.

Brudny, Über die Beziehungen der Bakterien usw. *Zentralbl. f. Bakt.* 1908. Bd. XXI. S. 62.

E. und H. Buchner und M. Hahn, *Zymasegärung.* München und Berlin 1903. S. 58 u. ff.

Bürgers, Schermann und Schreiber, Über Auflösungserscheinungen von Bakterien. *Diese Zeitschrift.* 1911. Bd. LXX. S. 119.

Cederncreutz, Studien über die Bedingungen des positiven und negativen Ausfalles der Gramfärbung bei einigen Bakterien. *Arch. f. Dermat. u. Syphilis.* 1908. Bd. XCIII. S. 355.

E. Deußen, Zur Kenntnis der Flußsäure. *Habil.-Schrift.* Leipzig 1905. S. 9, 27, 33 u. 43; *Zeitschr. f. anorg. Chem.* 1905. Bd. XLIV.

Derselbe, Über die Absorption der Uranylsalze. *Inaug.-Diss.* Erlangen 1898. S. 8; Wiedemanns *Annalen d. Physik.* 1898.

Deycke, Zur Biochemie der Tuberkelbazillen. *Münchener med. Wochenschr.* 1910.

Deycke und Much, Über einige strittige Punkte in der Biologie des Tuberkelbacillus. *Berliner klin. Wochenschr.* 1910. S. 1933 (im wesentlichen Streitschrift gegen Aronson).

Dezani, nach *Chem. Zentralbl.* 1909. Bd. I. S. 34.

Ehrström, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 1901. Bd. XXXII. S. 351.

Eisenberg, Über das Ektoplasma und seine Veränderung im infizierten Tiere. *Zentralbl. f. Bakt.* 1. Abtlg. 1909. Bd. XLIX.

Derselbe, Untersuchungen über halbspezifische Desinfektionsvorgänge, über die Wirkung von Farbstoffen usw. *Ebenda.* 1913. Bd. LXXI.



Ekenstein und Blanksma, nach *Chem. Zentralbl.* 1914. Bd. I. S. 965.

Euler-Lindner, *Chemie der Hefe.* Leipzig 1915. S. 66, 80 u. ff.

Feulgen, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 1912. Bd. LXXX. S. 73; Bd. LXXXIV. S. 309; 1913. Bd. LXXXVIII. S. 370.

A. Fischer, *Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas.* Jena (G. Fischer) 1899.

Galeotti, *Zeitschr. f. Bakt.* 1. Abt. Bd. LXVII. S. 225.

Gottstein, *Fortschritte der Medizin.* 1885. Bd. III; zitiert nach A. Fischer, *Fixierung, Färbung usw.* S. 116.

Gram, Über die isolierte Färbung von Schizomyceten in Schnitten und Trockenpräparaten. *Fortschritte der Medizin.* 1884. Bd. II.

Gregersen, Über die antiseptische Wirkung des Magensaftes. *Zeitschr. f. Bakt.* 1. Abtlg. 1916. Bd. LXXVII. S. 353.

Grimme, Die Gramsche Methode der Bakterienfärbung. *Zentralbl. f. Bakt.* 1902. Bd. XXXII.

Hamburger, *Zentralbl. f. klin. Med.* 1890. S. 425.

Hammersten, *Physiologische Chemie.* Wiesbaden 1907.

Heidenhain, Plasma und Zelle. 1. Abtlg., 1. Lief. 1907 im *Handbuch der Anatomie des Menschen* von Bardeleben. Bd. VIII. S. 1; nach Retzius, *Biol. Untersuchungen.* Neue Folge. Bd. XVI. S. 3.

Hottinger, Beitrag zur Theorie der Färbung nach Gram. Kolloidchemisch-optische Gesichtspunkte. *Zentralbl. f. Bakt.* 1915. Bd. LXXVI. S. 367.

Jobling und Petersen, *Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Therapie.* 1915. Bd. XXIV. S. 292.

Johnson und Chernoff, nach *Chem. Zentralbl.* 1913. Bd. II. S. 273.

Jones und Richards, *Ebenda.* 1914. Bd. I. S. 1438.

A. Kossel, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 1897. Bd. XXII. S. 176; 1898. Bd. XXV. S. 165.

Derselbe, *Zentralbl. f. Bakt.* 1896. Bd. XIX.

A. Kossel und Kutscher, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 1900. Bd. XXXI. S. 188.

Krafft, *Ber. d. Deutschen chem. Ges.* 1899. Bd. XXXII. S. 1584.

Krönig und Paul, Die chemische Grundlage der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXV. S. 1.

Kruse, Beziehungen zwischen Plasmolyse, Verdaulichkeit, Löslichkeit und Färbbarkeit von Bakterien. *Münchener med. Wochenschr.* 1910. Nr. 13.

Derselbe, *Allgemeine Mikrobiologie.* Leipzig (F. C. W. Vogel) 1910. S. 40ff., 22 u. 495.

Kruse, Bürgers, Schermann und Schreiber, Über Auflösungserscheinungen von Bakterien. *Diese Zeitschrift.* 1911. Bd. LXX. S. 126.

Kurajeff, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 1898. Bd. XXVI. S. 524.

Levene, *Ber. d. Deutschen chem. Ges.* 1912. Bd. XLV. S. 608.

Levene und Jacobs, *Ebenda.* 1911. Bd. XLIV. S. 1027.

Lilienfeld (1893), nach Retzius, *Biolog. Untersuchungen.* Neue Folge. Bd. XVI. S. 4.

Macfadyen, Allen, Morris und Rowland, *Ber. d. Deutschen chem. Ges.* 1900. Bd. XXXIII. S. 2764.

Malenück, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 1908. Bd. LVII. S. 99.

Mathews, *Ebenda.* 1897. Bd. XXIII. S. 399.





R. Mauch, Über physikal.-chemische Eigenschaften des Chloralhydrats und dessen Verwendung in pharm.-chemischer Richtung. *Arch. d. Pharmazie.* 1902. Bd. CCXL. S. 113 u. 166.

Nicolle und Alilaire, *Annal. Pasteur.* 1909; nach Kruse, *Mikrobiologie.* 1910. S. 55.

Nikitine, Contribution à la théorie d. l. color. d. microbes. *Russ. Arch. f. Patholog. usw.* Bd. V. Augustnummer; *Jahresber. über d. Fortschr. d. Lehre v. d. pathog. Mikroorg.* von Baumgarten. 14. Jahrg. 1898. S. 783. Ref.

Ostwald, *Lehrbuch d. allgem. Chem.* Bd. II. 1893. S. 650 u. 651.

Paltauf, *Wiener klin. Wochenschr.* 1891 u. 1892.

Patzschke, Über die Widerstandsfähigkeit von Bakterien gegen hohe Temperaturen usw. *Diese Zeitschrift.* 1916. Bd. LXXXI. S. 246.

Paul und Krönig, Über das Verhalten der Bakterien zu chemischen Reagenzien. *Zeitschr. f. physik. Chem.* 1896. Bd. XXI. S. 414.

Piccard, nach A. Kossel, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 1897. Bd. XXII. S. 176.

Plimmer und Scott, nach *Chem. Zentralbl.* 1908. Bd. II. S. 1941; 1913. Bd. II. S. 1130 u. 1131.

F. Reichert, Beiträge zur Gramfärbung. *Inaug.-Diss.* Heidelberg 1913.

Retzius, *Biologische Untersuchungen.* Neue Folge. XVI. Jena (G. Fischer) 1911. S. 5 u. 6, S. 65 u. Tab. 22.

Sisley, *Chemiker-Zeitung.* 1913. S. 1357 u. 1379.

S. Skraup, *Ber. d. Deutschen chem. Ges.* 1916. Bd. XLIX. S. 2142.

Stern, *Zentralbl. f. Bakt.* 1. Abtlg. 1908. Bd. XLVII. S. 561.

Steudel, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 1911. Bd. LXXII. S. 305; 1912. Bd. LXXVII. S. 497.

Tamura, Zur Chemie der Bakterien. *Ebenda.* 1913. Bd. LXXXVII.

Thannhauser, *Ebenda.* 1914. Bd. XCI. S. 329.

Thannhauser und Dorfmüller, *Ebenda.* 1914. Bd. XCV. S. 259; 1917. Bd. C. S. 121.

Unna, Rosaniline und Pararosaniline. *Monatshefte f. Dermat.* Erg.-Heft 1887. Hamburg und Leipzig (L. Voß) 1887.

Verworn, *Allgemeine Physiologie.* 1909.

L. Weiss, Zur Morphologie des Tuberkelvirus unter besonderer Berücksichtigung seiner Doppelfärbung. *Berliner klin. Wochenschr.* 1909. S. 1797.

Wróblewski, *Journ. f. prakt. Chem.* 1901. Bd. LXIV. S. 1 u. ff.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg.]

# Trinkwasserversorgung im Felde.

Von

Prof. Dr. **H. Selter**,

Stabsarzt d. R. und beratender Hygieniker einer Armee.

Meine Tätigkeit als Arzt bei einer Sanitätskompagnie beim Vormarsch, als Korpshygieniker im Stellungskriege und beratender Hygieniker einer Armee hat mir Gelegenheit gegeben, mich vor allem mit der Trinkwasserversorgung zu befassen. Eine einwandfreie und ausreichende Versorgung der Truppen mit Trinkwasser muß eine der wichtigsten Aufgaben des Hygienikers sein. Wenn auch der Krieg gezeigt hat, daß wir früher vielleicht etwas übertriebene Anschauungen bezüglich der Bedeutung des Trinkwassers für die Entstehung mancher ansteckenden Krankheiten, vor allem des Typhus gehabt haben, so besteht doch auch heute noch zu Recht, daß der Typhus durch infiziertes Trinkwasser übertragen werden kann; zweifellos werden derart entstandene kleinere Typhusepidemien im jetzigen Kriege beobachtet worden sein. Auch wir haben einzelne Fälle gesehen, wo der Verdacht, daß die Erkrankung durch infiziertes Wasser hervorgerufen war, sehr nahe lag. Die weitaus meisten Fälle von Typhus sind aber wohl durch Kontakt zustande gekommen.

Während des Bewegungskrieges ist ein wirksames Eingehen des Hygienikers auf die Trinkwasserfrage kaum möglich, hier bleibt als einzige Erfolg versprechende Maßregel die Forderung, daß Wasser nur gekocht getrunken werden darf und zwar ohne jede Ausnahme, da der Truppenarzt nicht in der Lage sein wird in der Eile eine Entscheidung zu treffen, ob ein Wasser einwandfrei sein kann oder nicht. Chemische Untersuchungen durch die Apotheker der Sanitätsformationen erlauben kaum ein Urteil und haben allein keinen großen Wert. Meist bleibt der Truppe auch keine Wahl, sie ist auf jeden Wasservorrat angewiesen, ganz gleich von welcher Beschaffenheit, wenn es nur einigermaßen klar ist. Durch die Einrichtung der Feldküchen ist die Möglichkeit gegeben, den Truppen stets gekochtes Wasser in Form von Kaffee oder Teeaufgüssen zu liefern; selbst an heißen Marschtagen konnte nach meinen Erfahrungen das Durstbedürfnis der Soldaten so gestillt werden, wenn der Kochkessel dauernd in Tätigkeit blieb.

Empfohlen werden Chlorkalkpräparate, von denen das Desazon der Farbenfabriken vorm. Fr. Bayer & Co. in Leverkusen nach den Untersuchungen von Kruse[1], Wesenberg[2], Ditthorn[3], Riemer und Endres[4] ganz zuverlässig zu sein scheint. Da es sich hierbei um einen Überschuß von Chlorkalk handelt, der des Geschmackes wegen neutralisiert werden muß, ist die Anwendung der Präparate genau durchzuführen. Ein anderes Verfahren (Schaeffer-Bollinger) versetzt das Wasser mit Chlorkalk, fügt nach 10 Minuten pulverisierte Kohle zu und läßt die Mischung durch ein Papierfilter filtrieren. Man hat hierbei ein besonderes Kochgeschirr nötig, in welches die Papierfilter eingeklemmt werden, außerdem eine Schachtel mit den Chemikalien und mehrere Reservepapierfilter. Wir haben beide Verfahren geprüft; bei dem filtrierten Wasser nach Schaeffer-Bollinger war der Geschmack einwandfrei, das Wasser nach Desazonbehandlung schmeckte zuweilen noch deutlich nach Chlor. Die Abtötung der Keime (zugesetzte Colibazillen) erfolgte bei beiden Verfahren innerhalb weniger Minuten, so daß sie vom gesundheitlichen Standpunkt aus unbedenklich sind. Ob sie aber für den Marsch sich als brauchbar erweisen, erscheint mir sehr fraglich. Im Stellungskrieg dagegen wird ihre Anwendung leicht möglich sein. Bei dem Marsch ist es besser, wenn die Chlorkalkreinigung in größeren Gefäßen durch den Truppenarzt oder einen Sanitätssoldaten ausgeführt wird. Wenn man in der Lage ist, den Chlorkalk mehrere Stunden (4 bis 6) einwirken zu lassen, braucht man nur 5 g pro Kubikmeter zu nehmen, die im Geschmack kaum bemerkbar sind, so daß eine Neutralisation fortfallen kann.[5] Man setzt den Chlorkalk am besten abends in einem großen Faß, das leicht aufzutreiben und mitzunehmen ist, zu, rührt um und hat am andern Morgen einwandfreies Trinkwasser. Sehr zweckmäßig wäre die Ausstattung der Truppen mit Wasserwagen, deren jede Formation einen von etwa 1000 Liter Inhalt haben müßte. Als notwendige Utensilien sind dabei eine kleine Flügelpumpe, Schläuche zum Füllen und ein Hahn zum Entnehmen vorzusehen. Will man das Wasser durch Chlorkalk reinigen, was unbedingt das Einfachste und Zuverlässigste ist, so wären irgendwelche Filtervorrichtungen nicht erforderlich. Es genügt dann eine einfache Holz- oder Eisentonne auf einem zweirädrigen Radgestell, die von einem Pferd gezogen werden könnte.

Der Stellungskrieg gibt dem Hygieniker Gelegenheit, der Trinkwasser-

[1] *Münchener med. Wochenschrift.* 1915. Feldärztl. Beilage. Nr. 34.

[2] *Hyg. Rundschau.* 1915. Nr. 8.

[3] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1915. Nr. 38.

[4] *Münchener med. Wochenschrift.* 1916. Nr. 6.

[5] **Selter, Verwendung von Chlorkalk zur Entkeimung von Trinkwasser im Großbetrieb.** ***Zentralblatt für allgem. Gesundheitspflege.*** **32. Jahrg. 1913. S. 241.**



versorgung eine größere Sorgfalt zuzuwenden. Für den Notfall hat man Trinkwasserbereiter zur Verfügung, von denen wohl für jede Division einer bereitgestellt werden kann. Da in dem Trinkwasserbereiter das Wasser gekocht und so absolut keimfrei gemacht wird, kann man jedes Wasser aus Seen, Kanälen, Flüssen usw. verwenden. Um aber eine zu schnelle Verschlammung des in dem Apparat befindlichen Sandfilters zu vermeiden, empfiehlt sich bei längerem Gebrauch neben der Wasserstelle ein Grube anzulegen und das Wasser durch ein Kiesfilter in diese treten zu lassen, um es vorzuklären. Da der Apparat im Feuerbereich nicht aufgestellt werden kann, er auch nur höchstens 8 cbm Wasser pro Tag liefert, das den Truppen in Fässern zugeführt werden muß, bietet die Versorgung der fechtenden Truppe hierdurch manche Schwierigkeit. Recht unangenehm sind auch die häufigen Reparaturen, die den Apparat für Wochen untauglich machen. In Gegenden, wo die Truppe längere Zeit liegt, sollte es möglich sein, ohne Trinkwasserbereiter auszukommen; so habe ich wenigstens in einem Korpsbereich in anderthalb Jahren in verschiedenen Gegenden und bei den schlechtesten Wasserverhältnissen nie einen solchen notwendig gehabt. Der Hygieniker muß in der Lage sein, den Truppen in kurzem Wasser von solcher Beschaffenheit zu besorgen, daß es unbeschadet auch ungekocht getrunken werden darf. Vor allem wird man dabei die vorhandenen Brunnen auszunutzen versuchen, die durch Sanierung der Umgebung und bauliche Verbesserungen in vielen Fällen einwandfrei gemacht werden können. Als Grundlage hierzu muß man sich möglichst schnell eine Übersicht über die vorliegenden Verhältnisse verschaffen. Ich ließ zu diesem Zweck eine Erhebung aller Brunnen anordnen, die ein klares Wasser gaben und sich in einigermaßen günstiger Umgebung befanden. Die übrigen wurden von vornherein ausgeschaltet und als unbrauchbar bezeichnet. Von jedem Brunnen mußten folgende Fragen beantwortet und in ein Zählblatt eingetragen werden:

1. Wo liegt der Brunnenschacht — Hof, Garten, Wiese?
2. Wie weit ist der nächste Abort oder die nächste Dungstelle vom Brunnenschacht entfernt?
3. Wie sind die Brunnenwandungen hergestellt? Aus rohen Steinen, Ziegelsteinen, Zementringen, gemauert, gefugt?
4. Liegt der Brunnenschacht unter dem Erdboden verdeckt, schneiden die Brunnenwandungen mit dem Terrain ab, oder überragen sie dasselbe und wieviel?
5. Wie groß ist der Querschnitt des Brunnens?
6. Wie groß ist die Entfernung von der Erdoberfläche bis zum Wasser?
7. Wie hoch ist der Wasserstand im Brunnen?
8. Wie wird das Wasser entnommen — durch Pumpe, Schöpfeimer?
9. Steht die Pumpe über dem Brunnen oder seitlich?



10. Ist eine Ablaufrinne vorhanden?
11. Wird der Brunnen schnell leer geschöpft? Wieviel Wasser liefert er ungefähr in 12 Stunden?

Von jedem Ort wurde mit den Zählblättern eine Ortsskizze eingefordert, in welche Straßen, Häuser mit Hausnummern und die Brunnen mit den Nummern der Zählblätter übereinstimmend eingetragen werden mußten.

Während dieser Erhebung ist ein Brunnenbaukommando zu bilden, das in engster Fühlung mit dem Hygieniker arbeiten muß. Für jede Division sind etwa 15 Mann nötig (Brunnenbauer, Rohrleger, Maurer) unter Führung eines fachmännisch gebildeten Unteroffiziers (Tiefbauingenieur), die mit allen erforderlichen Materialien und Werkzeugen auszustatten sind. An der Hand der Zählblätter wurde dann Ort für Ort mit dem Führer des Brunnenbaukommandos besichtigt und angegeben, was zu machen war, wie gute Brunnen instand gesetzt und verbessert und wo neue angelegt werden sollten.

Wenn Quellen vorhanden sind, wird man diese nach genauer Untersuchung der Umgebung der Quellen und des zugehörigen Niederschlagsgebiets fassen und den Truppen durch eine Wasserleitung zuführen. Man bedenke nur, daß Quellen, deren Niederschlagsgebiet nicht frei von menschlichem Verkehr gehalten wird, leichter verunreinigt werden können, als Grundwasser in gewisser Tiefe.

Im Etappengebiet habe ich gerne mit den Geologen zusammen gearbeitet. Hier handelte es sich darum, ein größeres Gebiet für einen bestimmten Zweck genau bezüglich der Trinkwasserversorgung zu bearbeiten, wobei mir neben der Erhebung der Brunnen eine von dem Kriegsgeologen Prof. v. Wolff hergestellte Grundwasserkarte vorzügliche Dienste leistete und die Arbeit erheblich erleichterte. Das hügelige Gelände mit Erhebungen von 40 bis 60 m über den Taleinschnitten bestand in seinem Grundstock aus Kreide, die überdeckt war mit einer verschieden mächtigen Schicht von diluvialem Lößlehm. Das Grundwasser, welches in größeren Tiefen auf einer Tonschicht unter der durchlässigen, klüftigen Kreide aufliegen mußte, war zwischen den Flußniederungen flächenhaft eingespannt und stieg unter den Plateaus etwas an. Auf den Plateaus war die Kreide mit Tertiärformationen überdeckt, die dort, wo sie nach der Kreide zu durch Ton abgeschlossen waren, in ihren Sanden Wasser führten und so über dem eigentlichen Grundwasser noch einen höheren Wasserhorizont bildeten. In diesen hinein waren die meisten der vorhandenen Brunnen bis zu Tiefen von 6 bis 8 m gebaut. Da der Boden in den Ortschaften aber überall vollständig durchseucht war, konnte das Wasser nicht einwandfrei sein. Außerdem gaben alle diese Brunnen auch nur wenig Wasser und versiechten bei längerer Trockenheit gänzlich, so daß sie für die Trinkwasserversorgung größerer Truppenmengen nicht in Frage kommen konnten.



Aus Lotungen der Brunnen und Bohrlöcher hatte Prof. v. Wolff eine Grundwasserkarte bearbeitet, welche den Grundwasserspiegel durch Höhenlinien (Hydroisohypsen) zum Ausdruck brachte. Diese Karte, von der Fig. 1 ein Beispiel gibt, stellt durch Kurven in Abständen von 5:5 m, welche die Punkte gleicher Grundwasserhöhe miteinander verbinden, die Lage des Grundwasserspiegels zur Geländeoberfläche fest und gestattet für jeden Punkt, dessen Terrainhöhe bekannt ist, die Tiefe bis zum Grundwasserspiegel zu ermitteln. Man ersieht aus der Karte auch die Strömungs-

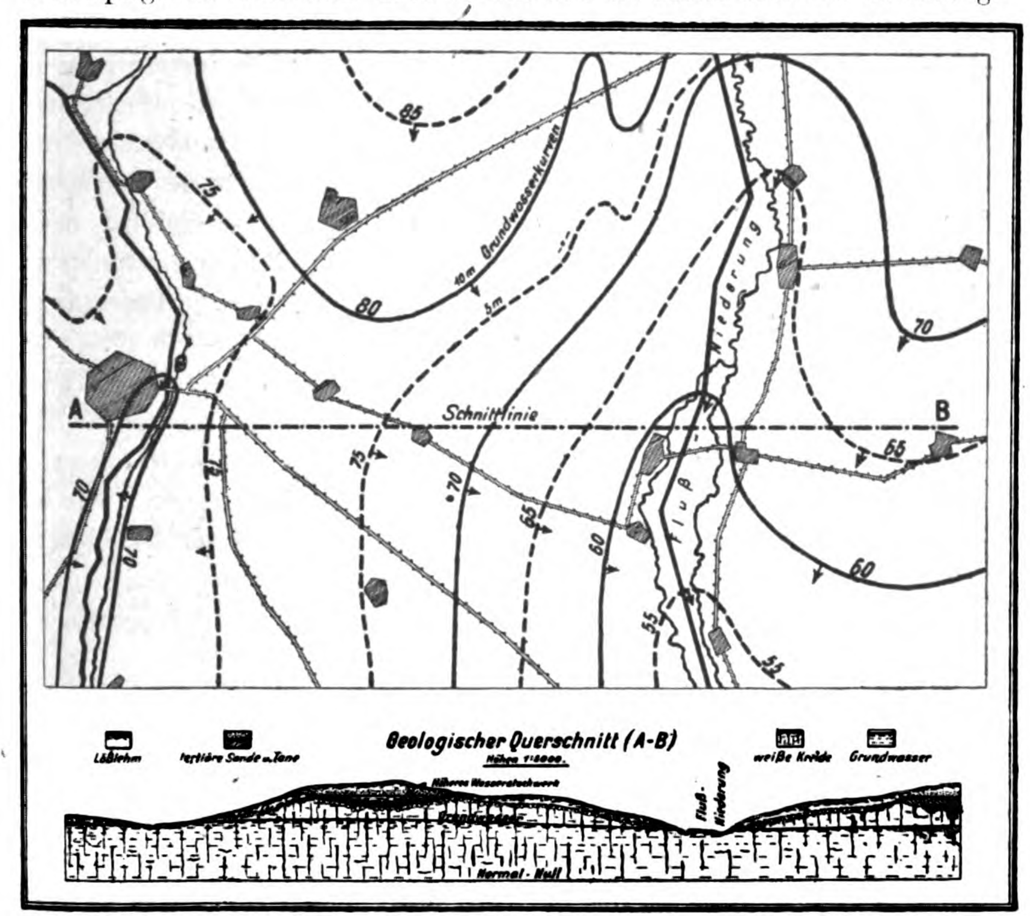



Fig. 1.

richtung des Grundwassers und kann hieraus leicht, besonders bei den in den Niederungen gelegenen Ortschaften beurteilen, inwieweit eine Verseuchung eines Brunnens durch seine Umgebung vorliegen kann. Wir fanden hier scheinbar paradoxe Verhältnisse, wo z. B. in einem von Norden nach Süden ziehenden Tale der Grundwasserstrom nicht von beiden Seiten der Bergabhänge nach dem Taleinschnitt und zu dem in demselben fließenden Bach zuströmte, sondern von Westen nach Osten nach einem ostwärts liegenden Haupttale. Das Dorf erstreckte sich

vom Bach aufwärts auf beiden Hängen. Die westlich gelegenen Brunnen am Westhang gaben gutes Wasser, die gleich hoch gelegenen Brunnen am Osthang waren dagegen nicht einwandfrei, da das ihnen entnommene Grundwasser einen großen Teil der Verunreinigung des Ortes aufgenommen hatte.

Aus den Zählblättern mit Hilfe der Grundwasserkarte konnte man schon am Schreibtisch leicht feststellen, welche Brunnen bis in den Grundwasserstrom reichten. In gemeinsamer Besichtigung der Orte mit dem Geologen und dem Vertreter der Baudirektion, welche für das Etappengebiet eine Abteilung für Brunnenbau eingerichtet hatte und über eine große Zahl gut eingearbeiteter Bohrtrupps verfügte, konnte in kurzer Zeit bestimmt werden, welche Brunnen zu verbessern und wo neue anzulegen waren. Die neuen Brunnen wurden stets so tief in den Grundwasserstrom hineingearbeitet, daß sie trotz des felsigen Bodens die gewünschte Menge Wasser gaben. In der Kreide wurden nur Bohrbrunnen ausgeführt, meist in Tiefen von über 20 m, die von vornherein eine Gewähr für einwandfreies Trinkwasser gaben; in anderem Boden mit Wasser in geringeren Tiefen zogen wir Schachtbrunnen vor. Für Schlagbrunnen fanden wir nie ein geeignetes Gelände, da man sie nur anlegen kann, wenn man in günstigen Tiefen (nicht unter 8 m) Kiesschichten von mindestens 1 m Stärke trifft. Vor Bau eines Brunnens in geologisch nicht bekannten Gegenden sollte man sich durch eine Probebohrung über die Bodenverhältnisse orientieren. Wir benutzten hierzu mit Erfolg ein Probebohrgerät aus dünnen 2 m langen Stahlstangen, das leicht von einem Mann getragen werden konnte, und mit dem es uns möglich war, in etwa einer Stunde Sand und Lehmboden bis zu 8 m Tiefe zu untersuchen.

Besonders ungünstige Wasserverhältnisse, die einer näheren Besprechung wert sind, fanden wir in einem Gebiet Flanderns. Schon in geringer Tiefe (1 bis 3 m) stieß man auf eine mächtige Tonschicht, die nach dem geologischen Gutachten über 100 m stark sein sollte. Auf diesem Ton lagen Erdschichten aus Sand, Lehm, Mergel, die Wasser in geringer Menge führten. Nur an wenigen eng umgrenzten Stellen senkte sich der Ton bis zu größerer Tiefe und war er mit reinen Wasser führenden Sanden überdeckt. Der Grundwasserspiegel stand sehr nahe der Terrainoberfläche, unterlag aber großen Schwankungen. Die Bevölkerung hatte überall Flachbrunnen gebaut, die nur in seltenen Fällen über 4 m tief waren. Da sie nicht ergiebig sein konnten, hatte jedes Haus seinen eigenen Brunnen. So wurden im Bereich einer Division über 3600 Brunnen gezählt, von denen die meisten von vornherein wegen ihrer Lage von der Trinkwasserversorgung der Truppen ausgeschlossen werden mußten.

Da wir eine genügende Reinigung des Grundwassers in der geringen



Tiefe von 1 bis 4 m nicht annehmen konnten, mußte der Bau der Brunnen so durchgeführt werden, daß das in dieselben gelangende Wasser einwandfrei wurde. Der Ton wies vereinzelte mehr oder weniger starke Wasseradern auf, weshalb die Brunnen stets in den Ton versenkt und je nach den Verhältnissen 6 bis 9 m tief gebracht wurden. Die Brunnen werden im Felde von den Truppen viel intensiver als im Frieden von den Bewohnern benutzt. Der Wasserverbrauch konzentriert sich auf kurze Zeit für Kochzwecke, Waschen, Reinigen usw., so daß die Brunnen fast täglich vollständig leer ausgepumpt werden. Hierbei wird aber ein steiler Absenkungstrichter gebildet, und das ungereinigte Wasser aus oberflächlichen Erdschichten an den Brunnen herangezogen. Die Brunnen mußten deshalb so gebaut werden, daß auch dieses Wasser vor Eintritt in den Brunnen auf seinem Wege möglichst gereinigt wurde.

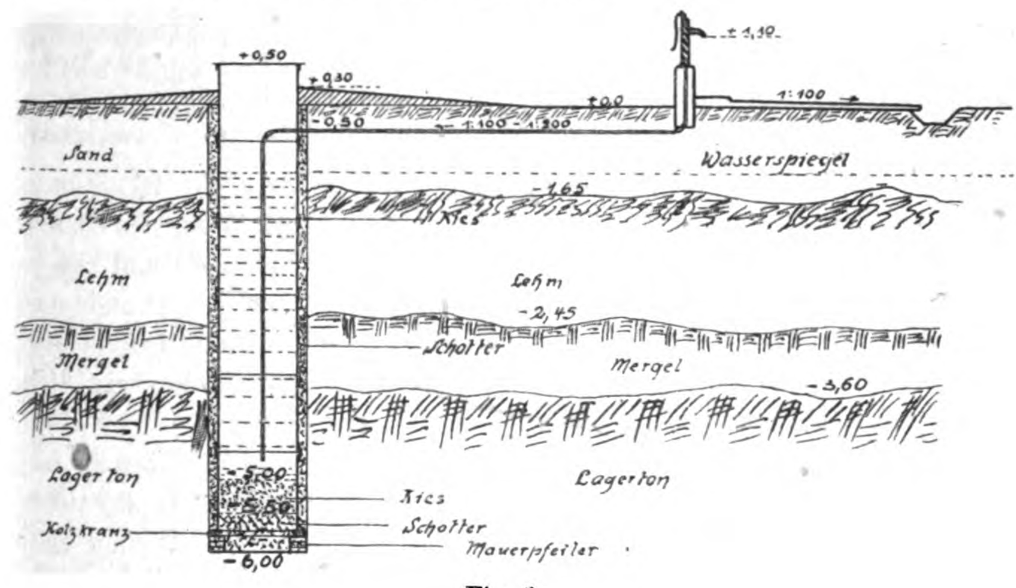



**Fig.** 2.

Die Ausführung unserer Brunnen geschah nach Fig. 2 in folgender Weise. Ein Zementring wird auf einen Holzkranz so aufgesetzt, daß von letzterem 15 cm nach außen überstehen; der Zementring wird durch Auswerfen der Erde von innen versenkt. Der Holzkranz verhindert ein Hängenbleiben der Zementringe im Boden; sie werden außen 2 bis 3 m hoch mit Schotter angefüllt, weiter nach oben mit Kies und Sand, um eine Verbindung der Wasseradern im Ton und des aufstehenden Grundwassers mit der Brunnensohle zu bekommen. Das gesamte in den Brunnen tretende Wasser wird so beim Herunterlaufen an der äußeren Wand der Zementringe sorgfältig filtriert, so daß selbst bei starker Benutzung des Brunnens die Gewähr gegeben ist, daß das aus den verunreinigten oberen Bodenschichten nachdringende Wasser genügend gereinigt wird. Der Holzkranz mit dem untersten Zementring und diese untereinander werden durch Eisenklammern fest verankert. Die Fugen

werden innen und außen sorgfältig gedichtet, so daß die Brunnenwandungen bis unten herunter absolut dicht sind. Der Holzkranz wird bei Beendigung der Ausschachtung durch 4 Trockenmauerwerkspfeiler von 30 bis 40 cm unterfangen und mit Schotter unterfüllt, der 20 cm über den Holzkranz hinaus in den Boden hinein gearbeitet wird. Im Innern des untersten Zementrings wird der Schotter mit 30 cm Kies und Sand bedeckt. Bakteriologische Untersuchungen zeigten, daß derart angelegte Brunnen selbst in nicht ganz idealer Lage im Sommer ein keimarmes Wasser ergaben. Im Winter, als der Grundwasserspiegel bis nahe an die Oberfläche reichte, gingen die Keimzahlen beträchtlich in die Höhe. Das Auslaugen der Humusschichten reicherte das Wasser zu sehr mit Bakterien an, so daß die Filtrationskraft des Brunnens sich erschöpfen mußte, zumal dauernd durch starkes Abpumpen das Wasser aus den oberen Erdschichten nachgezogen wurde. Die Lage der Brunnen und die seitliche Anbringung der Pumpe schützte aber davor, daß krankheitserregende Keime in das Brunnenwasser kommen konnten.

Die Brunnen wurden etwa 50 cm über Terrain gebracht, mit Sand abgeböscht und durch einen aufgeschraubten Deckel aus doppelter Bretterlage mit eingelegter Dachpappe verschlossen. Die Pumpe wurde mindestens 5 m seitlich gestellt auf gemauertem Sockel und mit Ausgußbecken und Ablaufrinne versehen. Sockel, Becken und Ablaufrinne wurden mit Zementputz verkleidet.

Die Brunnen gaben durchweg nur wenig Wasser (in 24 Stunden 500 bis 1500 Liter), so daß den Truppen empfohlen werden mußte, im Sommer die Brunnen allein zu Trink- und Kochzwecken zu verwenden und sich zu Waschzwecken Holzschächte anzulegen, um das oberflächliche Grundwasser und Regenwasser zu sammeln. Einzelne Brunnen mit größerem Durchmesser (2, 2·50, 4 m) wurden auch aus Ziegelmauerwerk, mindestens ein Stein stark, innen gut verfugt und außen verputzt, hergestellt.

Besonders ungünstig waren die Verhältnisse in dem Marsch- oder Polderland. Dieses hatte zwar reichlich Grundwasser bis in tiefere Schichten hinein. Infolge der Einlagerung einer Torfschicht und einer starken Durchsetzung sämtlicher wasserführenden Schichten mit faulenden organischen Substanzen war das Wasser jedoch gelb und roch intensiv nach Schwefelwasserstoff, so daß es zu menschlichen Genuß- und Gebrauchszwecken nicht zu verwerten war. Hier blieb uns als Möglichkeit einer Wasserversorgung nur das Heranbringen von Wasser mit der Bahn von besser gestellten Orten aus. Es wurden auf Bahnloren montierte Wasserwagen mit 6 bis 8 cbm Inhalt beschafft; zum Füllen dieser wurde an einer Stelle mit den günstigsten Wasserverhältnissen ein Pumpwerk errichtet. Drei Mauerbrunnen von 2, 2·5 und 4 m Durchmesser und 7 m Tiefe lieferten täglich etwa 100 cbm Wasser, das durch eine elektrisch betriebene doppelwirkende Unapumpe in den Hochbehälter gehoben wurde. Das Pumpwerk diente außer zur Füllung der Wasserwagen zur Speisung einer Mineralwasserfabrik mit einer Leistungsfähigkeit bis zu 40000 Flaschen täglich.

Zur Aufnahme des durch die Bahn herangebrachten Wassers wurden an verschiedenen Orten in der Nähe der Geleise gemauerte und innen verputzte Erdbehälter mit je 10 cbm Fassungsraum gebaut, an denen seitlich aufgestellte Pumpen angebracht waren. Das Wasser hält sich in ihnen kühl und frisch.

Die große Wasserarmut des Bodens und die Schwierigkeit, ergiebige Brunnen zu erhalten, veranlaßte uns, auch das Oberflächenwasser der Kanäle nutzbar zu machen. Um den Truppen für Reinigungszwecke, Tränken der Pferde u. a. ein reines Wasser in bequemer und reichlicher Weise zu beschaffen, wurde an einem Kanal eine kleine Sandfiltrationsanlage gebaut, die in Fig. 3 dargestellt ist.

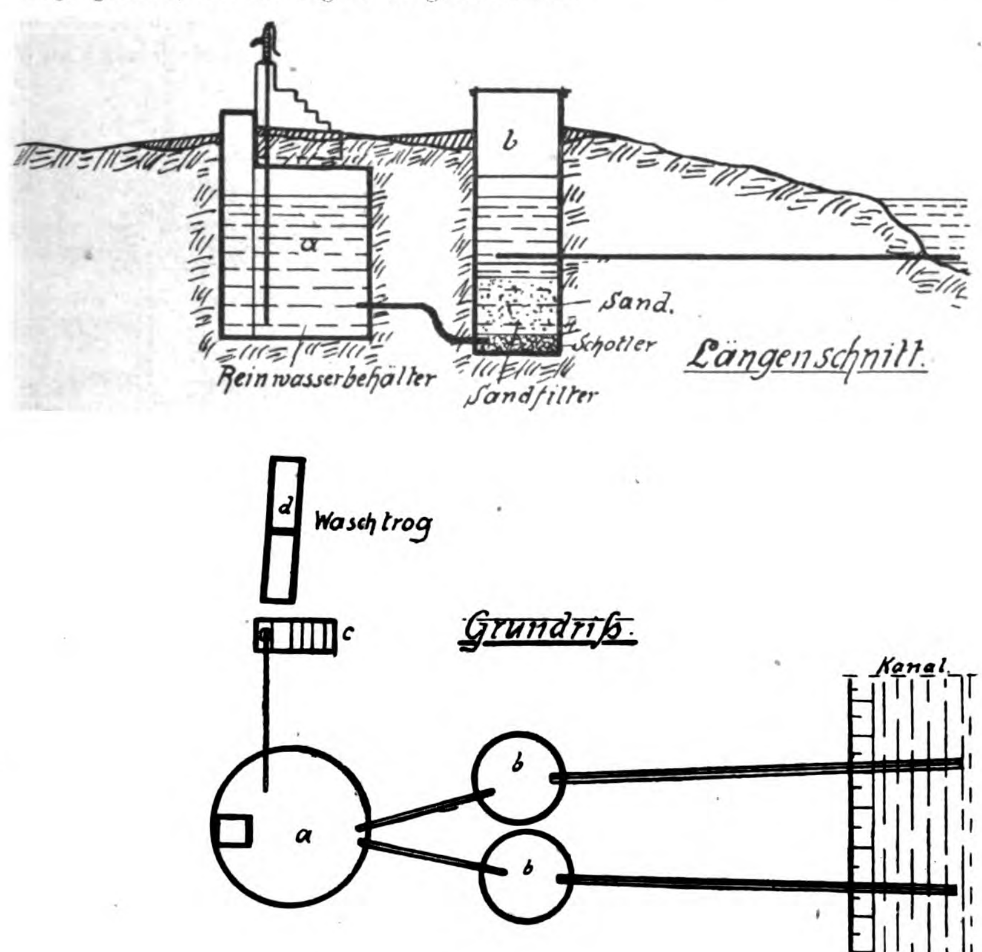



Fig. 3.

Zwei unten geschlossene Zementtonnen *b* von 1 m Durchmesser und Höhe wurden nebeneinander 30 m vom Kanal entfernt an einer hochwasserfreien Stelle so tief in den Erdboden versenkt, daß die Sohle 1·20 m unter dem niedrigsten Wasserstand des Kanals liegt. In 90 cm Höhe sind in die Zementtonnen zweizöllige Eisenrohre eingelassen, welche sie mit dem Kanal



verbinden. Im Kanal sind die Rohre gegen Eindringen von Tieren usw. durch Drahtgaze geschützt. Von den Zementtonnen führen auf dem Boden eingefügte Rohre nach einer landeinwärts gelegenen Eisenbetontonne *a* von 4·2 cbm Inhalt (wie sie in Belgien allgemein als Regenwasserzisternen benutzt werden). Die Tonnen *b* dienen als Filter und sind von unten nach oben mit 20 cm Schotter und 60 cm Filtersand gefüllt. Die Schichten wurden nach Kruses[1] Vorschlag lagenweise fest eingestampft und von dem Reinwasserbehälter *a* aus rückwärts mit Wasser angefüllt, um die Luft aus den Sandporen herauszutreiben. An die Reinwassertonne *a* ist eine Pumpe *c* angeschlossen. Das Wasser des Kanals tritt in die Filter *b*, die natürlich bis zur Höhe des Wasserstandes überstaut werden. Es läuft dann durch die Sandfilter in die Reinwassertonne, bis dort derselbe Wasserspiegel erreicht ist. In den ersten 14 Tagen wurden täglich Gelatineplatten angelegt; die Keimzahl sank nach 8 Tagen von einigen 1000 in 1 ccm plötzlich auf etwa 80 und hielt sich dann auf dieser Höhe.

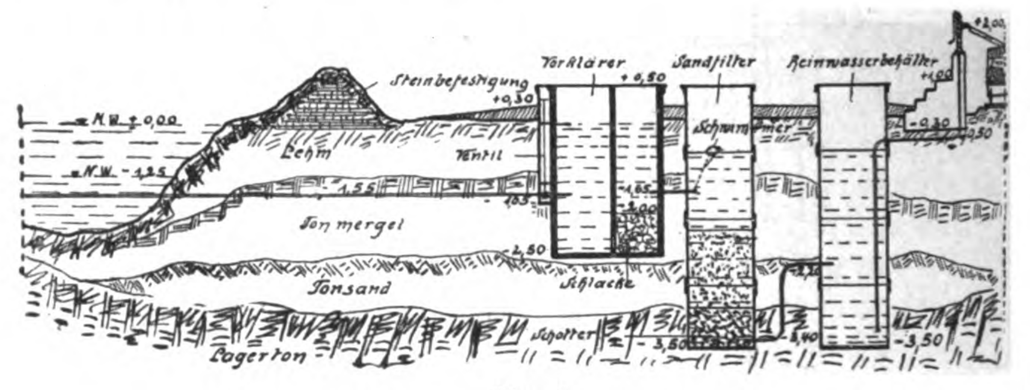



Fig. 4.

Eine andere Anlage wurde in **Fig. 4** angegeben. Durch eine Rohrleitung, die den Kanaldamm durchsticht und in den Kanal 1·85 m unter dem mittleren Wasserstand, 30 cm unter dem beobachteten niedrigsten Wasserstand einmündet, wird das Kanalwasser in den gemauerten Vorklärer gebracht, wo es durch ein Schlackenfilter von seinen groben Beimischungen befreit wird. Durch einen vorgebauten Schieber kann der Zufluß vom Kanal abgesperrt werden. Das vorgereinigte Wasser tritt in den zweiten Behälter, der auf einer Unterlage von 30 cm Schotter und Kies eine 1 m hohe Filtersandschicht trägt, die fest eingestampft ist. Ein Schwimmer regelt den Zufluß aus dem Vorklärer derart, daß das Sandfilter stets nur mit 1 m Wasser überstaut ist. Das Reinwasser wird durch ein Rohr in den Reinwasserbehälter gedrückt, aus dem es durch Pumpe entnommen werden kann. Filter und Reinwasserbehälter sind aus je 4 Zementringen hergestellt, die unten durch eine Betonplatte verschlossen sind.

**Fig. 5** zeigt eine Filtrationsanlage, die Trinkwasser liefern sollte. Es handelte sich einmal darum, der Bahn zum Speisen der Lokomotiven Wasser

[1] Kruse, Beiträge zur Hygiene des Wassers. *Diese Zeitschrift.* Bd. LIX, Flüggeband.



zu beschaffen, dann aber auch Reserven für einen größeren sehr wasserarmen Abschnitt zu bekommen. Es waren dort zahlreiche neue Brunnen gebaut worden, mit derem völligen Versagen wir aber bei anhaltender Trockenheit rechnen mußten. Wir wollten dann die Möglichkeit haben, jederzeit beliebige Mengen guten Trinkwassers mit Tankwagen verteilen zu können,

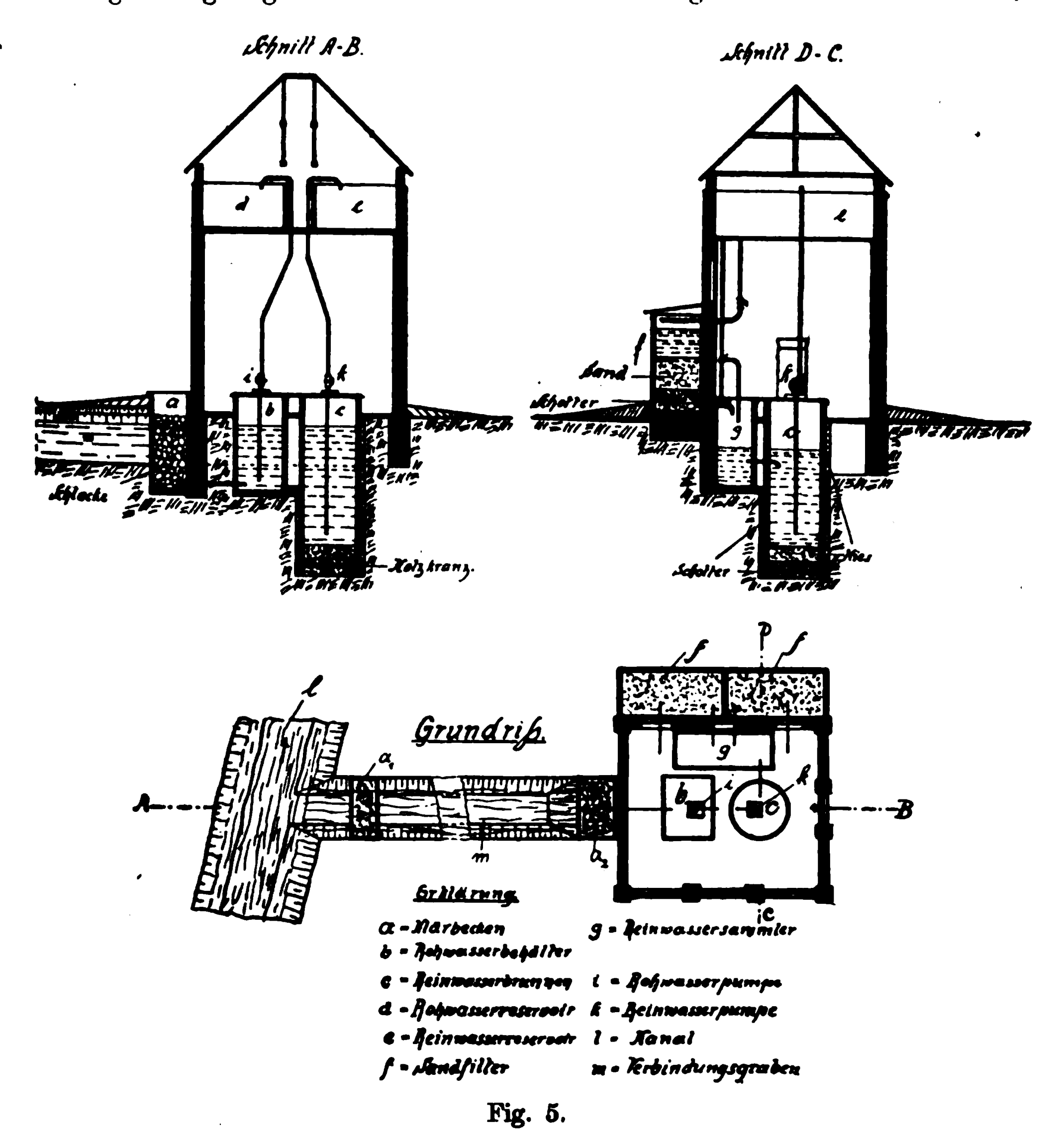



Fig. 5.

wozu in dem bedrohten Gebiet noch mehrere Erdbehälter angelegt werden konnten. Die Anlage mußte durch einen 3 m tiefen Graben mit dem 200 m entfernt liegenden Kanal verbunden werden. Das Kanalwasser wird durch zwei in den Verbindungsgraben eingesetzte Schlackenfilter $a_1$ und $a_2$, eins am Kanal, das andere am Pumpwerk grob gereinigt und in den Behälter *b* geleitet. Von hier pumpt es die Zentrifugalpumpe *i* in den Hochbehälter *d* (Schnitt A bis B). Aus diesem führen zwei Leitungen, eine nach dem Bahngeleise zum Speisen der Lokomotiven, die andere auf zwei hinter dem Ge-

bäude auf dem Erdboden aufgebaute Sandfilter *f* mit je 6 qm Oberfläche. Die Filterschicht besteht aus 1 m Sand; der Zufluß wird durch Schwimmer geregelt, die vermeiden, daß die Filter über 1 m hoch überstaut werden. Der Abfluß der Filter geht in den Reinwassersammler *g*, von wo es in einen 5 m tiefen Brunnen *c* läuft. Der Brunnen war vor der Anlage des Pumpwerkes bereits gebaut; es ist ein sorgfältig ausgeführter Mauerbrunnen von 2 m Durchmesser, der 3 m im Ton steht und nur wenig Wasser gab. Das Pumpwerk wurde um ihn herum gebaut, um ihn zum Kühlen des filtrierten Wassers, das im Sommer doch ziemlich warm ist, benutzen zu können. Eine zweite Zentrifugalpumpe *k* hebt das Reinwasser in den Hochbehälter *e*. Die Abflußleitungen der Sandfilter haben Ventile, wodurch die Filtrationsgeschwindigkeit beliebig geregelt werden kann. Die Abflußleitung ist außerdem mit dem Reinwasserhochbehälter verbunden, um die Filter vor Inbetriebnahme mit Reinwasser füllen zu können. Die Filter können jedes für sich abgesperrt und erneuert werden. Solange die Filter nicht genügend sicher arbeiten, und bei Inbetriebnahme eines erneuerten Filters ist die Möglichkeit vorhanden, dem filtrierten Wasser im Reinwassersammler *g* Chlorkalk zuzusetzen. Zu dem Zweck ist über demselben ein kleines Betonbecken mit einem Hahn angebracht, wodurch dem durchfließenden Wasser tropfenweise eine Chlorkalklösung in einer solchen Stärke beigemischt wird, daß das Wasser 3 g Chlorkalk auf 1 cbm enthält. Dieses Verhältnis genügt bei Wasser, das vorgereinigt und arm an organischen Substanzen ist, vollständig. um selbst stärker bakterienhaltige Wässer keimfrei zu machen, wenn, wie schon oben erwähnt, der Chlorkalk einige Stunden auf das Wasser einwirken kann. Die Filtrationsgeschwindigkeit soll nicht über 200 mm betragen, so daß die beiden Filter in der Stunde etwa 2·5 cbm Wasser liefern.

Die Benutzung der beiden ersten Anlagen zu Trinkzwecken wurde verboten, da in der Nähe Trinkwasser war. Natürlich mußte mit der Übertretung dieses Verbotes gerechnet werden, wofür ich aber glaubte, die Verantwortung übernehmen zu können. Ohne unser Wissen ist die erste Anlage längere Zeit von Feldküchen und Truppen als Trinkwasser verwandt worden, da sie ihnen etwas näher lag wie ein neu gebauter Brunnen. Es ist keine Schädigung beobachtet worden.

Diese Filtrationsanlagen erfordern natürlich eine stete Überwachung: durch bakteriologische Untersuchungen sind sie zu kontrollieren, und die Filter müssen erneuert werden, sobald die Ergiebigkeit erheblich nachläßt.

Im Prinzip haben wir im Operationsgebiet die Einzelversorgung durch Brunnen vorgezogen; jede Formation bekam ihren eigenen Brunnen, für dessen Instandhaltung sie verantwortlich war. Nur bei Tiefbohrungen, bei denen Pumpen mit mechanischem Antrieb verwandt werden mußten, haben wir Hochbehälter angebracht, und an diese eine kleine Verteilungsleitung mit Zapfstellen an den Straßen angeschlossen, so daß der eine Brunnen für einen ganzen Ort ausreichte.

[Aus dem Kgl. Hygienischen Institut der Universität Erlangen.]

# Gewerbehygienische Studien.

## I. Über Ölschäden in Gewerbebetrieben.

Von

Prof. Dr. **Wolfgang Weichardt** und Dr. **Hermann Apitzsch**.

In der letzten Zeit traten in verschiedenen größeren Nürnberger Betrieben Erkrankungen auf, gegen welche Abhilfe im Interesse der Kriegsindustrie erwünscht war.

Die im folgenden beschriebene Erkrankung, eine Gewerbeakne infolge Beschäftigung mit nicht genügend gereinigten Ölen, machte sich besonders im vergangenen Jahre geltend, und die betroffenen Werke wandten sich um Abhilfe an das K. Hygienische Institut.

Besonders störend für die betreffenden Betriebe war es, daß bei dem bestehenden Mangel an Arbeitskräften manche der betroffenen Arbeiter und Arbeiterinnen infolge der aufgetretenen Erscheinungen es vorzogen, die Arbeit an den Maschinen zu verlassen und sich anderen Beschäftigungen zuzuwenden. Ungeschulte Arbeitskräfte mußten eingestellt werden, die vielfach die Arbeit wieder verließen, nachdem auch bei ihnen die allenthalben sichtbaren Erscheinungen auftraten. Besonders empfindlich zeigte sich der weibliche Teil der Arbeiterschaft.

Die Schwierigkeiten häuften sich, als unbegründete Gerüchte in Umlauf gesetzt wurden, daß eine übertragbare Krankheit die Ursache des Leidens sei, daß die Säfte verderbt würden und ähnliches mehr.

Es war deshalb zunächst unsere Aufgabe, diese Gerüchte auf ihre Berechtigung zu prüfen und nach genauem Studium der krankheitserregenden Ursachen beruhigend einzugreifen, um zunächst den unbegründeten Arbeitsniederlegungen Einhalt zu tun.



Zugleich bemühten wir uns, die Ursache des Leidens zu ergründen, um auf dieser Grundlage wirksame Vorbeugungsmittel ausfindig zu machen. Hierbei ließen wir uns im wesentlichen von praktischen Gesichtspunkten leiten. War doch in der Kriegszeit besonders der Umstand zu berücksichtigen, daß nur solche Aushilfsmittel in Frage kommen konnten, die leicht und billig zu beschaffen und vollkommen im Inlande herzustellen waren.

Die Schädigungen traten in unseren Betrieben vorwiegend bei Arbeitern der Metallindustrie auf. Es stellten sich bei solchen, die an automatischen Drehbänken und anderen ähnlichen Maschinen beschäftigt waren, nach etwa 12 Tagen, oder auch nach längerer Zeit, Hauterkrankungen, vor allen Dingen an den Vorderarmen, aber auch bei einigen im Gesicht, an den Beinen und anderen Körperstellen ein.

Charakteristisch war das Auftreten zahlreicher, etwa stecknadelkopfgroßer, tiefschwarzer, an den Haarfollikeln lokalisierter Punkte, Comedonen. Völlig verschont blieben die Handflächen.

Zahlreiche Comedonen blieben längere Zeit bestehen, ohne eine weitere Entwicklung durchzumachen. Aus vielen entwickelten sich jedoch braunrötliche, erbsengroße, derbe perifollikuläre Knötchen, an deren Kuppe meistens eine kleine Pustel auftrat.

In diesem zweiten Entwicklungsstadium der Krankheit sah man dann zahlreiche papulopustulöse Effloreszenzen, die in ihrem Zentrum den Comedo erkennen ließen. Bei einzelnen Arbeitern waren diese Effloreszenzen auch an der Unterbauchgegend, am Gesäß, an den Beinen und besonders an den Unterschenkeln nachweisbar. Die Füße waren frei.

Eine spontane Rückbildung der Comedonen und Papeln ohne Narbenbildung schien nicht selten vorzukommen, jedoch waren auch kleine unauffällige Narben in dem Krankheitsbild in geringer Zahl nachzuweisen. Auch die Weiterentwicklung zu größeren Furunkeln wurde beobachtet.

Auffällig war, daß die Haare an den befallenen Gebieten brüchig wurden, ausfielen, und daß die Haarwurzeln teilweise gequollen waren.

Die Arbeiter klagten über mäßiges Jucken an den befallenen Körperstellen, immerhin konnten die direkten Belästigungen gering genannt werden. Allgemeine Krankheitserscheinungen haben wir nicht feststellen können, insbesondere war der Urin frei von Eiweiß.

Die auffälligen, auch für Laien sofort erkennbaren Veränderungen der Körperbedeckungen waren die Ursache der eingangs erwähnten Gerüchte und übertriebenen Anschauungen von der Schwere der Erkrankung.

Den Arbeitsniederlegungen, vor allem seitens der weiblichen Arbeiter, mußte im Interesse der Industrie unbedingt sofort entgegengearbeitet



werden, und wir veranlaßten, nachdem wir uns überzeugt hatten, daß eine an sich harmlose Gewerbeakne vorlag, die Betriebe, welche unsere Hilfe nachsuchten, zunächst durch Anschlag folgendes bekannt zu geben:

,,In letzter Zeit sind infolge der Beschäftigung mit Ölen in der Kriegsindustrie Hauterscheinungen, vorwiegend an den Armen, aufgetreten.

Diese Hauterscheinungen sind harmloser Natur.

Eine allgemeine Gesundheitsschädigung, insbesondere eine Erkrankung des Blutes oder der inneren Organe ist nicht zu befürchten.

Auch handelt es sich nicht um eine übertragbare Krankheit, die von Person zu Person ansteckend wirkt.

Um die Hauterscheinungen zu vermeiden, empfiehlt sich die Reinhaltung des Körpers, vor allem der der Einwirkung der Öle direkt ausgesetzten Teile der Arme.

Die Arme sollen nach beendeter Arbeit, bei Beginn der Mittagspause und beim Verlassen der Fabrik, mit warmem Wasser und Seife gründlich gereinigt werden.

Weitere Maßnahmen zur Verhütung der Hauterscheinungen sind in die Wege geleitet.“

Nach den eingezogenen Erkundigungen waren die Erkrankungen in unseren Betrieben vor dem Kriege nur ganz gelegentlich beobachtet worden. Als Erklärung für die auffällige Häufung in den letzten Jahren wurde von vielen Leitern der betreffenden Fabriken und auch den Öl liefernden Firmen die nicht genügende Reinigung der verwendeten Mineralöle herangezogen. Diese nicht genügende Reinigung wurde auf den derzeitigen Mangel an Schwefelsäure zurückgeführt. Das Öl wurde in unseren Betrieben beim Verarbeiten der Drehstücke usw. verwendet. Es spritzte zum Teil bei der Arbeit von den Maschinen, so daß nicht nur die Vorderarme, sondern auch das Gesicht vielfach mit Öl beschmutzt wurden. Ferner fanden wir auch allenthalben die Kleider, vor allem die Beinkleider von Öl durchtränkt.

In einem Betriebe hatte man schon vor unserem Eingreifen Schutzärmel zu verwenden versucht, jedoch ohne Erfolg, was wegen der ungeeigneten Beschaffenheit der das Öl aufnehmenden Ärmel erklärlich war. Ferner hinderten die Ärmel, vor allem wenn sie ölhaltig geworden waren, die Leute bei der Arbeit außerordentlich.

Unser Krankheitsbild war am meisten dem ähnlich, welches als Petroleumakne in der Literatur bekannt ist. Chlor, das auch zu Akneformen Veranlassung gibt, und worüber wir vor allem K. B. Lehmann[1]



[1] K. B. Lehmann, Studien über Chlorakne. *Archiv f. Hygiene.* 1903. S. 322.



und Anderen[1] Untersuchungen verdanken, kam bei unseren Arbeitern nicht in Betracht.

Über allgemeine und Hautvergiftungen durch Petroleum hat L. Lewin[2] bereits im Jahre 1888 Untersuchungen ausgeführt und auch über ihre Entstehung einige Überlegungen angestellt. Lewin fand, daß besonders die schweren Petroleumbestandteile die Eigenschaft besitzen, tierische Gewebe in Entzündungen zu versetzen. Besonders waren es die bei 250 bis 360° destillierbaren Petroleumprodukte, welche wirksam waren. Lewin führte diese Produkte bei seinen Versuchen in den Magen ein und setzte die dort sich zeigenden Veränderungen in eine Parallele mit den an der Haut der Arbeiter sich abspielenden Prozessen. Besonders die Verstopfung der Follikelmündungen, der Haut- und Talgdrüsen durch das schmierige Petroleumprodukt müssen nach Lewin zu Veränderungen führen. Ferner die Mehrbildung von Sekreten und die gleichzeitige Behinderung der Exkretion, welche eine Erweiterung des Ausführungsgangs nach sich ziehen.

Wir haben die Entzündung erregenden Eigenschaften unserer Öle nicht mittels intrastomachaler Einverleibungen verfolgt, sondern wir bedienten uns der Ohren albinotischer Kaninchen, indem wir gereinigtes und ungereinigtes Öl auf sie brachten und dann den Grad der Entzündung vergleichsweise maßen.

Aus dem Pustelinhalt der befallenen Haut der Arbeiter gelang es uns, neben anderen Eitererregern, auffallend viel Streptokokken zu züchten. Es ist wohl die Annahme berechtigt, daß beim Zustandekommen des charakteristischen Krankheitsbildes beim Menschen verschiedene Ursachen wirksam sind. Vielleicht wird durch die anfänglichen Reizungen lokaler Partien infolge dauernder Wirkung der nicht indifferenten Mineralöle die Widerstandsfähigkeit gegen infektiöse Prozesse allmählich herabgesetzt, so daß sekundär Eitererreger und ihre Spaltprodukte beim Zustandekommen der lokalen Herde mit beteiligt sind.

Das uns übersandte Öl war von dickflüssiger Beschaffenheit, dunkler Farbe, schwachblauer Fluoreszenz und von unangenehmem Mineralölgeruch.

Wie die Prüfung ergab, waren freie Säuren oder Alkalien in irgend erheblichen Mengen nicht darin vorhanden. Einige Kubikzentimeter des Rohöls wurden in einem Gemisch gleicher Teile Äther und Alkohol gelöst

[1] Die recht ausgedehnte Literatur über diesen Gegenstand ist in den bekannten Sammelwerken, auf welche hier verwiesen sei, übersichtlich zusammengestellt.

[2] L. Lewin, Über allgemeine und Hautvergiftung durch Petroleum. Virchows *Archiv*. CXII. 1888.





und mit Phenolphthalein versetzt. Auf Zusatz eines Tröpfchens Normalalkali trat Rötung ein.

Das unbehandelte Öl wurde auf das Ohr eines Kaninchens (Albino) aufgetragen. Schon im Laufe von 24 Stunden trat erhebliche Rötung des Ohres ein. Diese steigerte sich nach wiederholtem Auftragen des Öles während der nächsten Tage, und es kam sogar zu Exsudationen. Die Haare über den eingeriebenen Stellen schwanden, und dieser Haarschwund zeigte sich auch auf dem Rücken, entsprechend der Lage des mit Öl bestrichenen Ohres. Auch an der daselbst befindlichen Haut zeigten sich schließlich hochgradige Rötung und Exsudationen.

Gleichzeitig wurden Kontrollversuche angestellt, um den mechanischen Effekt der Öleinreibung selbst kennen zu lernen. Es wurden die Ohren von gleich jungen Albinos mehrmals am Tage mit reinem Olivenöl eingerieben. Wie zu erwarten, traten keinerlei Reizerscheinungen auf.

Ehe wir an eine Entfernung der in dem Öl offenbar vorhandenen reizenden Substanzen gingen, versuchten wir, ob es möglich sei, ähnliche Reizerscheinungen durch wiederholtes Bestreichen der Ohren mit Paraffinum liquidum, also einem reinen Mineralöle, hervorzubringen. War es doch immerhin möglich, daß die länger dauernde Bedeckung der Hautstelle mit Mineralölen allein schon einen schädigenden Einfluß ausübte. Unsere dahin angestellten Versuche belehrten uns, daß reines Paraffinum liquidum, mehrmals auf das so empfindliche Ohr der Kaninchen gestrichen, keine Reizerscheinungen hervorrief.

Es mußte sich also bei den zu untersuchenden Ölen um besondere, infolge ungenügender Reinigung zurückgebliebene, reizende Substanzen handeln, auf welche die zirkumskripten Entzündungserscheinungen zurückzuführen waren.

Das stärkere Auftreten der Hauterscheinungen war mit den durch den Krieg bedingten wirtschaftlichen Verhältnissen in Zusammenhang zu bringen. Nach den eingezogenen Auskünften waren Hautschädigungen der beschriebenen Art in unseren Betrieben vor dem Kriege nur ganz vereinzelt beobachtet worden, während jetzt ihr Auftreten sich häufte. Die Öle stammten von verschiedenen Bezugsquellen. Zugleich wurde darauf hingewiesen, daß infolge des Fehlens von Schwefelsäure die Reinigung der jetzt verwendeten Öle nicht mehr so sorgfältig wie früher durchgeführt würde. Da, wie wir gesehen haben, das Paraffinum liquidum Reizerscheinungen nicht hervorrief, glaubten wir zunächst die zweifellos in unseren Ölen vorhandenen harzigen Bestandteile dafür verantwortlich machen zu können. War es doch möglich, daß gerade derartige Harze infolge ihrer physikalischen Beschaffenheit zu einer Verstopfung der Haut-





poren führen konnten, die zweifellos von schädlichem Einfluß sein mußte. Bestärkt wurden wir in dieser Annahme durch die Eigenschaft des verwendeten Öles, Fette leicht zu lösen. Es gelang uns z. B., Lanolin und Schweinefett in beliebigen Mengen in dem Öle aufzulösen. Der Vorgang konnte also immerhin so sein, daß primär eine Auflösung des Hauttalges eintrat, und daß sich dann sekundär harzige Bestandteile in den Talgdrüsen festsetzten.

Um einen Einblick in diese Verhältnisse zu bekommen, bestimmten wir zunächst den Harzgehalt der Öle.

Der Harzgehalt von Mineralölen läßt sich bekanntlich durch Ausschütteln mit konzentrierter Schwefelsäure in Petrolätherlösung in einem graduierten Gefäß leicht ermitteln.

Nach Kooper schüttelt man das zu untersuchende Öl mit konzentrierter Schwefelsäure in Petrolätherlösung und kann an der Volumzunahme der konzentrierten Schwefelsäure direkt den Harzgehalt ablesen. Kooper nimmt diese Bestimmung in einem eigens von ihm angegebenen Röhrchen vor, in dem das Öl, die Schwefelsäure und der Petroläther zuerst gut durchgeschüttelt und dann zentrifugiert werden.

Nach Kooper schwankt der Harzgehalt der Mineralöle im allgemeinen zwischen 5 und 25 Prozent und beträgt bei guten Ölen meist 3 bis 12 Prozent des Volumens des Öles. Da uns die Kooperschen Röhrchen nicht zur Verfügung standen, nahmen wir die Messung in graduierten Zylindern vor und konnten nach mehrtägigem Stehenlassen konstante Ablesungen vornehmen.

So wurden 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure, 10 ccm Öl, etwa 22 ccm Petroläther in einem 100 ccm-Zylinder gut durchgeschüttelt. Nach mehrstündigem Stehen hatte die Schwefelsäure ungefähr um einen Kubikzentimeter zugenommen. Der Versuch wurde wiederholt mit genau 3 ccm Schwefelsäure, 6·2 ccm Öl und 15·8 ccm Petroläther in einem geeichten engen 25 ccm-Zylinder. Nach mehrtägigem Stehen hatte sich die schwarze Schwefelsäure fast quantitativ abgeschieden, sie betrug 3·5 ccm, hatte also um 0·5 ccm zugenommen. Die angewandten 6·2 ccm Öl hatten demnach 0·5 ccm Harz enthalten oder rund 8 Prozent. Nach dieser beiläufigen Messung überstieg also der Harzgehalt nicht den eines guten Mineralöles, so daß die Schädlichkeit wohl kaum auf zu große Mengen von Harzen in den verwendeten Ölen zurückzuführen war.

Daß die reizenden Eigenschaften der Öle überhaupt wohl nicht auf die Harze als solche zurückzuführen sind, zeigten uns die Versuche, bei denen wir die in den Mineralölen zurückgebliebenen Harze vollkommen entfernten:



Wir versuchten zunächst, um die bei den jetzigen Verhältnissen zu teuere Schwefelsäurebehandlung zu vermeiden, durch Schütteln mit Tierkohle, Talkum und Kieselgur, die ja bekanntlich infolge ihrer absorbierenden Eigenschaften in größtem Maßstabe als verhältnismäßig billige Reinigungsmittel technische Verwendung finden, Harze und bzw. andere schädliche Substanzen zu entfernen.

Die vollständige Entfernung der Harze mit praktisch anwendbaren Mengen dieser Mittel gelang nicht, obgleich die Öle bedeutend heller, der Geruch schwächer und weniger unangenehm geworden war.

Auch zeigten die angestellten Tierversuche, daß die reizenden Substanzen keineswegs aus den Ölen verschwunden waren. Die bestrichenen Ohren unserer Albinos waren sehr bald stark gerötet, und Exsudationen traten ein.

Wir entfernten die Harze nun vollständig durch Behandeln mit konzentrierter Schwefelsäure:

Das Verfahren war folgendes:

1. 30 ccm Öl wurden mit 20 ccm konzentrierter Schwefelsäure durchgeschüttelt, dabei trat starke Verharzung ein, während das Reaktionsgemisch deutlichen Geruch nach schwefliger Säure zeigte. Nach öfterem kräftigen Schütteln, darauffolgendem guten Auswaschen, zuerst mit Wasser, dann mit verdünnter Natronlauge, wieder folgendem Auswaschen mit Wasser und schließlichem Trocknen mit Chlorkalzium und Filtrieren wurde ein helles Öl von gelber Farbe mit schwachblauer Fluoreszenz und nur ganz schwachem an Petroleum erinnernden Geruch erhalten.

2. 50 ccm Öl wurden mit nur 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure, sonst in gleicher Weise, behandelt. Die Farbe des zweiten Endproduktes war etwas dunkler als die des ersten. Die Ausbeute an gereinigtem Öl betrug bei der zweiten Portion ungefähr 60 Prozent des angewandten Rohöls.

Bei den angestellten Tierversuchen zeigte es sich nun, daß auch durch diese Behandlung die reizenden Substanzen aus dem Öle noch nicht verschwunden waren, selbst die mit verhältnismäßig viel Schwefelsäure behandelte Probe reizte noch erheblich, wenn auch eine Besserung dem Rohöl gegenüber nicht zu verkennen war.

Wir mußten deshalb unsere ursprüngliche Annahme und die oben entwickelten physikalischen und chemischen Anschauungen über den Vorgang des Reizungsprozesses fallen lassen. Die Harze als solche waren zweifellos nicht für den Reizeffekt verantwortlich zu machen.

Der bei der Behandlung mit konzentrierter Schwefelsäure auftretende starke Geruch nach schwefliger Säure wies darauf hin, daß in dem Öle



unverhältnismäßig viel leicht oxydierbare Substanzen, d. h. ungesättigte Verbindungen vorhanden sein mußten. Von großem Interesse für unsere Untersuchung waren die bekannten Arbeiten von **Paal**.[1] Dieser zeigte, daß durch reduzierende Behandlung selbst des so giftigen Krotonöls dessen reizende Wirkungen beseitigt werden konnten.

**Paal** bediente sich für diese Versuche katalytischer Reduktion und benutzte kolloidale Metalle der Platingruppe als Wasserstoffüberträger. Aus den **Paal**schen Untersuchungen geht hervor, daß durch Beseitigung der ungesättigten Verbindungen, bzw. durch Umwandlung ungesättigter in gesättigte Verbindungen, auch die Giftwirkung aufgehoben wird. Derselbe Erfolg mußte sich durch Oxydation der in den Mineralölen vorhandenen ungesättigten Verbindungen erreichen lassen oder durch deren Umwandlung in gesättigte Verbindungen, wie sie durch Halogenaddition an ungesättigte meist leicht zu erreichen ist.

Wir wandten zunächst Kaliumpermanganat und zwar in Verbindung mit Salzsäure an.

30 ccm Öl und 60 ccm konzentrierter Salzsäure wurden in einem Kolben gut durchgeschüttelt, dabei trat bereits Erwärmung ein, harzige Flocken setzten sich an der Wand des Kolbens fest. Von diesen wurden das Öl-Säuregemisch nach mehreren Stunden in einem Scheidetrichter abgegossen. Dann wurde nach und nach von einer wässerigen Permanganatlösung (5 g in 100 ccm Lösung) zugegeben, und das Ganze gut durchgeschüttelt, bis der unangenehme Ölgeruch verschwunden, dagegen deutlicher Chlorgeruch vorhanden war. Verbraucht wurden 50 ccm Permanganatlösung. Nach einigen Stunden Stehen hatten sich das Öl und die braune wässerige Lösung so weit getrennt, daß die letztere bequem vom Öl abgegossen werden konnte. Hierauf wurde das Öl im Scheidetrichter 3 mal mit Wasser durchgeschüttelt, dann 3 mal mit stark verdünnter Natronlauge und schließlich nochmals 5 mal mit Wasser gewaschen.

Dann wurde das Öl mit Chlorkalzium getrocknet, filtriert und nochmals gründlich mit Kaliumkarbonat getrocknet und filtriert. Zurückerhalten wurden 22 ccm Öl. Es hatte nur ganz schwachen nicht unangenehmen Geruch, rotbraune Farbe und war dickflüssig. Das Öl zeigte keine Fluoreszenz mehr. Diese Versuche ermutigten uns, diesen Weg weiter zu beschreiten, und wir versuchten, ähnliche Wirkungen durch Behandlung mit Chlorkalk zu erzielen und von der verhältnismäßig teuren Permanganatbehandlung sund Salzsäure abzusehen.

In der Tat gelang es, ein den Anforderungen der Praxis genügend entsprechendes Reinigungsverfahren auf diesem Wege ausfindig zu machen:

[1] **Paal**, *Ber. d. deutschen chem. Ges.* Bd. XLII. 1909. S. 1541 ff.

50 ccm Öl wurden in einem Schüttelzylinder mit 15 g Chlorkalk gut durchgeschüttelt. Wir ließen das Gemisch 15 Stunden stehen und schüttelten es während dieser Zeit häufig durch. Dann wurde vom Chlorkalk in einen Schüttelzylinder abfiltriert, wobei 40 ccm Öl zurückerhalten wurden. Diese 40 ccm wurden in dem gleichen Schüttelzylinder mit 40 ccm Wasser durchgeschüttelt und dies mehrmals wiederholt. Das Wasser wurde abgegossen, und das zurückbleibende Öl mit Kaliumkarbonat getrocknet und filtriert. Zurückerhalten wurden etwa 40 ccm. Das Öl war von rotbrauner Farbe und etwas heller wie das mit Permanganat behandelte. Es roch nicht unangenehm und zeigte keine Fluoreszenz.

Während das Öl vor der Behandlung mit Permanganat und Salzsäure bzw. mit Chlorkalk bei der Prüfung auf Halogene mittels der Beilsteinschen Probe (Erhitzen mit Kupferoxyd) kein positives Resultat gab, gelang der qualitative Nachweis von Halogen nach der Behandlung unzweifelhaft mit ausgezeichneter Schärfe. Da infolge des sorgfältigen Auswaschens eine Täuschung durch einfach gelöste Salzsäure oder Chlorkalk ausgeschlossen ist, so wird unsere oben ausgesprochene Anschauung, daß es sich bei unserem Reinigungsverfahren im wesentlichen um eine Umwandlung ungesättigter Verbindungen in gesättigte handelt, berechtigt sein. Es soll dabei nicht in Abrede gestellt werden, daß durch unser Reinigungsverfahren noch ein Teil der ungesättigten Verbindungen durch Oxydation entfernt worden ist.

Die mit dem so gereinigten Öle angestellten Tierversuche zeigten, daß es auf diesem Wege gelungen war, die reizenden Substanzen in erheblichem Grade zu entfernen.

So wiesen die mit dem gereinigten Öle eingeriebenen Kaninchenohren den mit ungereinigtem Öl bestrichenen gegenüber nur nach längerer Einreibung Rötungen auf. Exsudationen waren nicht zu bemerken. Allerdings verhielten sich die verschiedenen uns übersandten Ölproben nicht ganz gleich.

Während es gelang, aus einigen verhältnismäßig leicht mit der Chlorbehandlung die reizenden Substanzen zu entfernen, war das bei später gelieferten Proben nicht in vollem Maße möglich. Immerhin war im Vergleich zu den Kontrollen, die ungereinigtes Öl bekommen hatten, stets ein recht beträchtlicher Reinigungseffekt festzustellen.

Selbstverständlich kann die Haut unserer albinotischen Kaninchen nicht ohne weiteres mit menschlicher Haut verglichen werden, jedenfalls war sie viel empfindlicher als diese. So konnten in unseren Betrieben ekzematöse Prozesse, die auf eine erheblichere Entzündung der tieferen Gewebspartien der menschlichen Haut hätten schließen lassen, bei Ver-



wendung der ungereinigten Öle nicht beobachtet werden. Bei den von uns beobachteten Arbeitern handelte es sich nur um Akneformen.

Um den Erfolg der Chlorkalkbehandlung in etwas größerem Maßstabe prüfen zu können, wurden von einer neuen Ölsendung $1^1/_2$ Liter in Arbeit genommen. Das Öl hatte einen etwas weniger unangenehmen und weniger intensiven Geruch. Um die Säurezahl zu bestimmen, wurden 5 ccm in einem Gemisch von 30 ccm Alkohol in 30 ccm Äther gelöst. Nach Zusatz von Phenolphthalein blieb diese bräunliche Lösung unverändert, ein bis zwei Tropfen Normalkalilauge riefen dann dagegen intensive Rotfärbung hervor. Das Öl war also gegen Phenolphthalein so gut wie neutral.

Das Rohöl wirkte auf Albinoohren sehr bald schädigend ein. Um das Verhältnis des Chlorkalkes zum Öl, das bei dem ersten Versuch ein gutes Resultat gegeben hatte, beizubehalten, wurden 1·5 Liter des Rohöls in einem großen hohen Glaszylinder mit 450 g Chlorkalkpulver versetzt. Der Chlorkalk wurde in kleinen Mengen eingetragen und jeweils kräftig durchgeschüttelt. Nachdem alles zugegeben war, ließen wir unter häufigem kräftigen Schütteln 2 Tage lang bei Zimmertemperatur den Chlorkalk auf das Öl einwirken, möglichst gut absitzen und filtrierten dann das Öl durch ein Faltenfilter ab. Das Öl war klar, schied aber nach längerem Stehen einen fein verteilten, schwarzen, harzigen Niederschlag ab, von dem nochmals abfiltriert wurde. Von einem Waschen mit Wasser wurde abgesehen.

Das so behandelte Öl schädigte das Ohr der Albinos bedeutend weniger als das Rohöl. Leider war aber diese Chlorkalkbehandlung recht verlustreich; da der Chlorkalk sehr viel von dem dickflüssigen Öl festhielt, wurden nur zwei Drittel des angewendeten Öles wieder gewonnen. Dazu kommt noch, daß bei dem heutigen Mangel an Chlorkalk die Anwendung des Verfahrens im Großen in Frage gestellt wird.

Es wurde deshalb versucht, ob nicht wässerige Natriumhypochloridlösung, die in der Technik ja neuerdings viel Verwendung findet, für unsere Zwecke an Stelle des Chlorkalks treten könnte.

Wir stellten uns eine ziemlich konzentrierte Na-Hypochloridlösung durch Einleiten von Chlor in eine fünffach Normalnatronlauge, bis letztere fast gesättigt war, dar. Mit dieser Hypochloridlauge wurde das Rohöl gut durchgeschüttelt. Merkwürdigerweise verschwand der charakteristische Geruch des Rohöls nur äußerst langsam und blieb auch bestehen bei Verwendung eines großen Überschusses von Hypochlorid. Das Rohöl war zunächst mit kleineren Mengen Hypochloridlauge geschüttelt worden, schließlich war der Verbrauch an Lauge im Verhältnis zum Öl zwei zu eins.

Das Öl wurde dann im Scheidetrichter von der Lauge getrennt, mit Wasser gut ausgewaschen, mit Chlorkalzium getrocknet und filtriert.

Die Prüfung fiel auffallenderweise weniger befriedigend aus, als nach der Chlorbehandlung, was sich auch nicht änderte, als die Behandlung desselben Öls mit noch mehr Hypochlorid wiederholt wurde.

Eine direkte Chlorbehandlung war bisher nicht unternommen worden, da ihre Anwendung für nicht geschulte Arbeiter an den Verbrauchsstätten des Öls und ohne geeignete Hilfsmittel nicht zweckmäßig erschien. Ein Versuch im Kleinen führte jedoch zu so günstigem Erfolg, daß darüber berichtet werden soll.

In 400 ccm Rohöl wurde einige Minuten lang Chlorgas eingeleitet. Dabei erwärmte sich das Öl, die Wandung des Glaskolbens bedeckte sich mit einer mäßigen Harzschicht und Salzsäure entwich. Sobald diese Salzsäureentwicklung stärker wurde, wurde der Chlorstrom abgestellt, das Öl vom Harz abfiltrirt, dann im Scheidetrichter wiederholt mit viel Wasser ausgewaschen und mit Chlorkalzium getrocknet.

Dies so behandelte Öl blieb auch nach mehrtägigem Stehen klar, war fast geruchlos. Der Gehalt an Chlorverbindungen war, nach der Flammenfärbung zu urteilen, nur gering. Die Prüfung war durchaus befriedigend.

Während bei den Kontrolltieren schon nach wenigen Einreibungen recht bemerkenswerte Entzündungen wahrzunehmen waren, zeigten sich an den Ohren der mit dem gereinigten Öle behandelten Tiere erst viel später entzündliche Erscheinungen in geringerem Grade.

Aus unseren Versuchen können allgemeingültige Vorschriften für die Reinigung derartiger Öle selbstverständlich nicht abgeleitet werden. Die Zusammensetzung der Öle ist eine zu wechselnde, so daß seitens der liefernden Firmen stets die jeweils passende Reinigungsmethode für eine größere Lieferung ausprobiert werden muß. Da bei dem jetzigen Ölmangel und wegen der Schwierigkeit der Beschaffung geeigneter Chemikalien in absehbarer Zeit Öle mit reizenden Substanzen voraussichtlich in der Praxis vielfach in Kauf genommen werden müssen, haben wir nach anderer Richtung den Betrieben durch Bereitstellen geeigneter Schutzeinrichtungen zu nutzen gesucht.

Die von einem Betrieb vor unserem Eingreifen verwendeten Schutzärmel waren ganz unzweckmäßig, ja verschlimmerten das Übel nur, da sie sich mit dem Öle vollsaugten, so daß die Berührung der Haut mit den reizenden Substanzen eine noch innigere wurde.

Wir bemühten uns deshalb, einen gegenüber dem Öl widerstandsfähigen, undurchlässigen Stoff ausfindig zu machen. Der nach dem Verfahren von Dr. Eichengrün mit Cellonlack imprägnierte Ballonstoff, wie er von der Firma Riedinger, Augsburg, benutzt wird, erwies sich

in unseren Vorversuchen als geeignet.[1] Die genannte Firma stellte uns verschiedene Proben zur Verfügung, deren Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Öl wir durch längere Behandlung feststellten. Eine dieser Proben erwies sich als besonders widerstandsfähig. Aus dieser ließen wir zunächst Schutzärmel anfertigen, die beim Arbeiten an den betreffenden Maschinen verwendet wurden.

Allerdings haben Schutzärmel an sich Nachteile, auf die mehrfach in der Literatur hingewiesen worden ist. Sie passen meist schlecht und hindern deshalb bei den Hantierungen. Verwendet man undurchlässige Stoffe, so wird die Hautausdünstung gehemmt, was bei besonders hoher Außentemperatur von vielen Personen sehr lästig empfunden wird. Größere Hautpartien mit undurchlässigen Stoffen zu bedecken, ist vollkommen unzweckmäßig. Dagegen ist es angängig, die am meisten der Schädlichkeit ausgesetzten Hautpartien, wie die Vorderarme, durch gutpassende Schutzärmel und die Vorderseite des Körpers durch eine Schürze aus geeignetem Stoffe zu schützen.

Die aus dem beschriebenen Material hergestellten Schutzärmel zeigten beim Arbeiten an den betreffenden Maschinen genügende Dauerhaftigkeit. Allerdings müssen derartige Schutzärmel für den Einzelnen nach Maß angefertigt werden. Sind die Ärmel zu bauschig, so hindern sie bei der Arbeit, ebenso wenn sie zu eng sind. Ferner müssen die Ärmel an den Gelenken gut abschließen, weil sonst nach längerem Gebrauche das Öl auch in das Innere des Ärmels gelangt. Ein umgelegtes Gummiband kann den Abschluß nach unten vervollständigen. Am Oberarm befestigten wir den Ärmel durch eine Knöpfvorrichtung.

Während einige Arbeiter von den Ärmeln befriedigt waren und noch einen erweiterten Schutz aus dem gleichen Material in Form einer Schürze wünschten, wurden sie von anderen, vor allem während der heißen Sommertage, lästig empfunden. Eine Auswahl des geeigneten Personals seitens der Fabrikleitung, verbunden mit möglichster Reinigung der am meisten betroffenen Hautstellen nach der Arbeit und in den Betriebspausen wird, wenn wirksame Reinigungsverfahren der Öle nicht angewendet werden können, wesentlich dazu beitragen, die beobachteten Belästigungen auf ein erträgliches Maß herabzumindern.

[1] Auf diesen Stoff hat uns Herr Prof. Busch aufmerksam gemacht. Ihm und Herrn Dr. Bernkopf, der uns als Facharzt für Dermatologie unterstützte, verdanken wir wertvolle Ratschläge.



# Studien über Biologie und Wuchsformen der Diphtheriebakterie.

Von

Professor **E. Almquist** und Privatdozent **G. Koraen**
in Stockholm.

(Hierzu Taf. IV—VI.)

Die Löfflersche Bakterie bietet dem Forscher große Schwierigkeiten. Die Variation ist bedeutend. Lange und kurze, feine und plumpe, körnige und lichtbrechende, keulenförmige und andere anscheinend deformierte Individuen treffen sich öfters. Einige Rassen sind für Meerschweinchen sehr virulent, andere ganz harmlos. Gehören nun alle diese verschiedenen Formen genetisch zusammen, so daß sie eine einzige Art ausmachen? Sind die Varietäten durch äußere Verhältnisse gebildet worden, und kehren sie in gewissem Milieu zu den giftigen, verhältnismäßig langen, körnigen Stäbchen wieder zurück?

Diese Fragen sind in der Hauptsache noch unbeantwortet geblieben, obgleich sie für die Erklärung entstandener Epidemien eminente Bedeutung haben. Wir wissen noch nicht, wie sich die ungiftigen Rassen und die sogenannten Pseudodiphtheriebakterien zu den giftigen Diphtheriebakterien genetisch verhalten. Die zur selben Gruppe gehörende Propionsäurebakterie ist von der Diphtheriebakterie konstant verschieden. Wie viele von den anderen genannten Rassen besitzen unveränderliche Merkmale, die sie als eigene Arten kennzeichnen? Wie viele von ihnen bilden nur relativ erbliche Rassen, die, wie Olssons Choleravarietäten[1], allmählich zu der Ursprungsbakterie zurückkehren? Unter welchen Verhältnissen wird die avirulente oder schwach virulente Rasse wieder gefährlich, d. h. wie kann eine Rasse mit abgeschwächter Virulenz und schwachem Vermögen, eine Epidemie zu unterhalten, wieder zu voller Virulenz gelangen?

[1] *Zentralbl. f. Bakteriologie usw.* Abt. I. Bd. LXXVI. S. 23.



Eine große Schwierigkeit für Lösung dieser Frage liegt in der Unmöglichkeit, die Bakterie gut zu emulgieren. Die Erreger von Typhus, Cholera und Dysenterie lassen sich im Wasser leicht aufschwemmen. Die Diphtheriebakterie bildet dagegen Haufen von verflochtenen, zum Teil sogar zusammengewachsenen Individuen, ungefähr wie die Tuberkelbakterien. Eine Folge der schweren Emulgierbarkeit ist zweifellos, daß die Diphtherie schwieriger als der Darmtyphus sich mit Milch verbreiten kann.

Zu allererst war es also nötig, eine normale, giftige Diphtheriebakterie in Reinkultur zu erhalten. Vom hiesigen Epidemienkrankenhause hat Dr. Thure Hellström uns stets gutes Material zur Verfügung gestellt. 1912 ist es G. Troili-Petersson gelungen, Diphtheriebakterien in Einzellkultur zu isolieren. Dieselben benutzen wir noch. Die Methode von Burri ließ sich unschwer für den Zweck aptieren. Das Auswachsen der gewählten Individuen geschah auf Glyzerinagar unter mikroskopischer Kontrolle. Es ist Troili-Petersson sogar gelungen, eine Methode für Einzellkultur der Propionsäurebakterie auszuarbeiten.[1]

Bei Studien über die Propionsäurebakterien hat es sich vorteilhaft gezeigt, eine Laktatbouillon zu benutzen. Dasselbe gilt auch für die Diphtheriebakterie. Wir präparieren hierfür eine Peptonbouillon, setzen 2 Prozent Calciumlaktat hinzu und alkalisieren schwach mit Kalkwasser. Bei 35° wächst die Diphtheriebakterie darin gut. Bald findet man im Bodensatz eine reichliche Menge von feinsten, perlenschnurähnlichen Formen, die in dieser Bouillon bei 35° mehrere Monate hindurch sichtbar unverändert bleiben und in einem Tage auf Schweinsserum zu den ursprünglichen, aus Einzellkultur gewonnenen, giftigen, körnigen Diphtheriebakterien auswachsen. Sogar wenn die Bouillon durch Verdunstung ziemlich eingedickt worden ist, erhält sich die Rasse unverändert und stirbt nicht ab.

In der Laktatbouillon hatte sich also eine Art von Dauerform entwickelt, die sich als Ausgangsmaterial für Forschungen über Biologie und Wuchsformen sehr bewährt hat. Die gesamten kleinen Bildungen scheinen ziemlich gleichförmig vorzuliegen. Für die Entwicklung der normalen Diphtheriestäbchen benutzten wir für gewöhnlich Schweinsserum ohne jeglichen Zusatz. Die Stäbchen wachsen darauf üppig und gut.

In gewöhnlicher Bouillon bei 35° bildet die Diphtheriebakterie neue Formen, wenn die Bouillon bis zu Sirupskonsistenz eintrocknet. Dann findet man dicke, ungeformte Massen von verschiedener Gestalt. Manchmal bilden die Massen kurze Ketten von dicken Perlen. Manchmal sieht

[1] *Zentralbl. f. Bakteriologie usw.* Abt. II. 1914. Bd. XX. S. 110.



man auch neben den dicken Massen sehr feine Bildungen. Nach einem Tage bei 35° bilden solche Kulturen auf Schweinsserum wieder gute Stäbchen.

Die Umformung der Diphtheriebakterie zu groben Bildungen geht auch bei Zimmertemperatur vor sich, wenn die Bouillon eintrocknet. Wir pflegen die Bakterie zuerst bei 35° gut auswachsen zu lassen. In anderen trocknenden Medien, in Laktatbouillon und auf Serum haben wir eine ähnliche Umformung beobachtet. Die Trockenheit ist dabei das maßgebende Moment.

Kleine Gipsblöcke, mit verschiedenen Flüssigkeiten benetzt, wurden mit Diphtheriekulturen bestrichen. In Laktatbouillon bei 25° und auch bei Zimmertemperatur bildeten diese Kulturen bald feine, perlenschnurähnliche Bildungen, die wenigstens zwei Monate lebten. Wenn die Blöcke nur mit Wasser benetzt waren, geschah wenigstens zum Teil eine ähnliche Entwicklung, und die Kultur lebte einige Wochen. Auf den mit Laktosebouillon benetzten Blöcken starben dagegen die Diphtheriekulturen in zwei Wochen aus. In zuckerhaltiger Nahrung sehen die Diphtheriestäbchen geschwollen und unnatürlich verändert aus. Zuckerlösungen dürfen deshalb bei biologischen Studien nur mit Vorsicht benutzt werden. Dasselbe gilt für viele pathogene und auch saprophytische Bakterien.

## Unsere photographierten Wuchsformen.

Die ersten beiden Figuren veranschaulichen das Wachstum der Diphtheriestäbchen auf Gipsblöcken. Fig. 1 (Taf. IV) zeigt die Formen, die in Laktatbouillon bei 18° während zwei Wochen gebildet worden sind. Wir finden schöne, feine Oidienketten nebst einzelnen gröberen, rundlichen Oidien. Kaum sind einige Stäbchen unverändert geblieben. Fig. 2 (Taf. IV) zeigt die Veränderung in Wasser bei 25° nach zwei Wochen. Die Stäbchen sind auch hier in Oidien eingeteilt, aber diese scheinen dicker zu sein.

Die nächsten zwei Figuren weisen auf, wie die in Laktatbouillon gebildeten feinen Oidien auf Schweinsserum zu Stäbchen auswachsen. Die Laktatkulturen hatten fast 4 Monate bei 34° gestanden. Nach zwei Stunden sehen wir die Oidien meistenteils ziemlich unverändert, einige gespitzte Stäbchen sind jedoch deutlich in Bildung (Fig. 3, Taf. IV). Nach einem Tage ist das Präparat von Stäbchen überfüllt, einige bilden sich noch aus den Oidien (Fig. 4, Taf. V).

Alle die folgenden Figuren bilden Formen aus den besprochenen Einzelkulturen ab. Zuerst sehen wir, wie alte Laktatkulturen auf Schweinsserum auswachsen. Nach zwei Stunden fangen die Oidien an, Stäbchen zu bilden, nach einem Tage ist die Stäbchenbildung ziemlich fertig (Fig. 5 und 6,

Taf IV und V). Nach 4 und 5 Tagen finden wir, daß aus den Stäbchen meistens recht dicke Oidien gebildet worden sind (Fig. 7 und 8, Taf. VI). Dieses geschah auf etwas trockenem Serum. Nach drei Wochen sieht man fortwährend auf dem Serum dickere und feinere Oidien (Fig. 9, Taf. VI).

In stark eingedickter Peptonbouillon unterliegen die Stäbchen einer bedeutenden Umformung. In Bouillonkulturen, die zwei Monate bei 35° gestanden hatten, finden wir Haufen von Stäbchen zusammen mit groben oidienähnlichen Massen (Fig. 10, Taf. VI). Auf Schweinsserum sind nach 12 Stunden ähnliche grobe Formen zum Teil in sehr feine Bildungen umgewandelt worden und nach 24 Stunden in Diphtheriestäbchen (Figg. 11 und 12, Taf. VI). Einige dicke Formen sind jedoch ziemlich unverändert geblieben.

## Andere Wuchsformen.

Die von uns näher studierten Formen des Löfflerschen Bacillus beschränken sich auf die giftigen, körnigen Stäbchen, die groben Formen, die feinen Oidien, sowie die unten beschriebenen, 1 bis 2 $\mu$ messenden, feinen Nädelchen. Alle diese Formen hatten sich aus einem einzigen Stäbchen entwickelt, das im Jahre 1912 isoliert wurde. Die drei erstgenannten Formen machen physiologische Entwicklungsstadien aus. Die Nädelchen dagegen, die eine zähe Konstanz beibehalten, sind avirulent und können als degeneriert angesehen werden.

In den Kulturen, die von dem erwähnten isolierten Stäbchen stammen, erschienen manchmal auch andere Bildungen, z. B. kölbchenförmige oder Stäbchen mit starkem Glanz. Diese Formen hatten jedoch in den Kulturen keine Bedeutung, sie verschwanden oder gingen in die erwähnten vier Formen über. Sie wurden von uns nicht weiter verfolgt.

Im allgemeinen trifft man in Diphtheriekulturen sehr oft zahlreiche glänzende Stäbchen, sowie auch kölbchen- oder flaschenförmige und kleinste Formen verschiedener Art. Um die letztgenannten feinsten Formen zu isolieren, sind die betreffenden Kulturen neunmal durch Kieselgur filtriert worden. Mehrmals wurde dabei vor dem Filtrieren die Kultur mit Sand geschüttelt, um die Individuen sicherer zu emulgieren. Alles war umsonst, im Filtrat konnten nie die gesuchten Formen zum Wachstum gebracht werden.

Die verschiedenen Formen des Löfflerschen Bacillus, ebenso wie die verwandten Arten, müssen in Einzellkultur ausgesucht und studiert werden. Erst dadurch kann ihre wahre Natur festgestellt werden. Die Verfasser haben sich im allgemeinen damit begnügt, die bei konventioneller Kultur gefundenen Formen zu beschreiben und abzubilden.

## Die Diphtheriebakterie bei niedriger Temperatur.

Die Vorstellung, daß Löfflers Bacillus höhere Temperatur für sein Wachstum fordert, trifft nicht zu. Zwar leiden die Stäbchen beim Aufbewahren bei 10° bedeutend. Es scheint, daß sie dabei in schleimige Massen umgewandelt werden. Bei gewöhnlicher Zimmertemperatur wachsen sie aber gut.

Stämme aus unseren Einzellkulturen wurden in Glyzerinagar emulgiert. Die damit gegossenen Platten wuchsen, einige bei 35°, andere bei Zimmertemperatur, aus. Nach zwei Wochen zeigten die letztgenannten Platten ähnliche, wenn auch spärlichere Kolonien, wie die in Wärme nach zwei Tagen ausgebrüteten Platten. Die bei verschiedener Temperatur gewachsenen Kolonien entwickelten ähnliche körnige Stäbchen.

Bei Zimmertemperatur wachsen die Stäbchen sowohl in Peptonagar ohne Glyzerin, wie auch in Calciumlaktatagar. Im letztgenannten Medium wachsen sie in mehreren Generationen nacheinander, in Platten entwickeln sie dann in drei Wochen viele Tiefkolonien, die Stäbchen nebst groben und feinen Bildungen enthalten.

In gewöhnlichen Peptonagarplatten bilden sich in einer Woche bei Zimmertemperatur deutliche, zum Teil große Kolonien aus. Nach drei Wochen sind die Kolonien groß und enthalten Stäbchen. Die oberflächlichen Kolonien können die charakteristische Trockenheit aufweisen; manchmal sind sie jedoch tropfenähnlich. Innerhalb eines Monats findet man in den Kolonien oft Körnchen und kleine, feine Nädelchen. Einige Kolonien sehen dann gelblich aus.

## Die Virulenz der trocknenden Kulturen.

Die nachfolgenden Tabellen 1 und 2 veranschaulichen die Virulenz von zwei Stämmen derselben Einzellkultur von 1912, die abwechselnd in Laktatbouillon und gewöhnlicher Bouillon aufbewahrt worden sind. Der Stamm A hat sowohl Form wie Virulenz beibehalten. Am 4. Februar 1913 tötete eine Normalöse ein Meerschweinchen nach zwei Tagen, am 17. Februar 1915 ebenso 1 ccm Bouillonkultur. Immer zeigte dieser Stamm A in frischer Kultur körnige Diphtheriebazillen.

Der Stamm B dagegen hat durch irgendeine Ursache sich umgewandelt, ist avirulent geworden und wächst in frischer Kultur immer als kleine, feine Nädelchen, 1 bis 2 $\mu$ lang.

Die trocknenden Kulturen dieser beiden Stämme waren in etwa 4 ccm gewöhnlicher Bouillon angelegt, sie wuchsen bei 35° aus und wurden danach in der erwünschten Temperatur zum Eintrocknen gelassen, bis die



Konsistenz von Sirup erreicht war. Die Virulenz wurde geprüft entweder direkt mit der trocknenden Bouillon, gewöhnlich aber nach Überimpfen in frische Bouilon oder auf Schweinsserum und dergleichen. Die Dosis betrug bzw. 1 ccm und 1 Normalöse. Die Meerschweinchen hatten ein Gewicht von 225 bis 250 g. Die Sektion hat jedesmal als Todesursache den Diphtheriebacillus bestätigt.

Tabelle 1.
Der virulente Stamm A.

| Nr. | Eintrocknende Bouillon | Meerschweinchen geimpft mit | Tag 1917 | Resultat |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1½ Wochen 34° | Bouillon direkt | 9. III. | † 5. Tag |
| 2 | 2½ ,, 35° | Serum 3 Tage | 9. III. | † 2. Tag |
| 3 | 2½ ,, 35° | Serum 2 Tage | 9. III. | † 5. Tag |
| 4 | 7 ,, 35° | Bouillon direkt | 7. V. | † 4.Tag |
| 5 | 3 ,, 22° | Serum 1 Tag | 16. III. | † 3. Tag |
| 6 | 7½ ,, 22° | Serum 8 Tage | 19. IV. | lebt |
| 7 | 8 ,, 22° | Serum 7 Tage | 25. IV. | lebt |
| 8 | 8 ,, 22° | Serum 2 Tage | 19. V. | † 2. Tag |
| 9 | 7 ,, Zt. | Glyzerinagar 2 Tage | 7. V. | † 2. Tag |

Die Tabelle 1 zeigt, daß der Stamm A fast immer in der trocknenden Bouillon seine Virulenz beibehalten hat. Noch nach 7 Wochen bei 35° oder Zimmertemperatur hat der Stamm dieses vermocht. Bei 22° war das Resultat jedoch unsicher, zweimal war er nach 3 bzw. 8 Wochen virulent, zweimal hatte er dagegen nach etwa 8 Wochen die Giftigkeit verloren.

Tabelle 2.
Der avirulente Stamm B.

| Nr. | Eintrocknende Bouillon | Meerschweinchen geprüft mit | Tag 1917 | Resultat |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1½ Wochen 35° | Bouillon 6 Tage | 9. III. | lebt |
| 2 | 4 ,, 35° | Serum 3 Tage | 19. IV. | lebt |
| 3 | 7 ,, 35° | Bouillon direkt | 7. V. | lebt |
| 4 | 6 ,, 22° | Serum 7 Tage | 19. IV. | † 6. Tag |
| 5 | 7 ,, 22° | Glyzerinagar 4 Tage | 4. VI. | lebt |
| 6 | 7½ ,, 22° | Serum 6 Tage | 25. IV. | lebt |
| 7 | 8 ,, 22° | Serum 2 Tage | 19. V. | † 3. Tag |
| 8 | 10 ,, 22° | Serum 4 Tage | 4. VI. | lebt |
| 9 | 10 ,, 22° | Bouillon 6 Tage | 4. VI. | † 2. Tag |
| 10 | 7 ,, Zt. | Glyzerinagar 2 Tage | 7. V. | † 2. Tag |
| 11 | 7½ ,, Zt. | Serum 6 Tage | 25. IV. | † 4. Tag |



Der Stamm B zeigte sich fortwährend avirulent in den drei ersten Versuchen in der Tabelle 2. In 7 Wochen bei 35° ging er also nicht in eine virulente Form über. In der bei 22° trocknenden Bouillon finden wir ihn dagegen virulent in drei Versuchen von sechs. Bei Zimmertemperatur ist er in beiden Versuchen nach 7 bis 8 Wochen virulent geworden. Es geht daraus also unzweideutig hervor, daß in einer bei niedriger Temperatur trocknenden Bouillon ein ausgesprochen avirulenter Stamm seine Giftigkeit wieder gewinnen kann. In den Versuchen waren wenigstens 6 Wochen dafür erforderlich. Es scheint besonders wichtig zu sein, daß dieses auch bei Zimmertemperatur geschieht.

In der trocknenden Bouillon gingen die feinen, kurzen Nadeln zum Teil in grobe Formen über.

Ein dritter Stamm C von derselben Einzelkultur, wie A und B, besteht aus einer Mischung von körnigen Stäbchen und kurzen feinen Nädelchen. In der trocknenden Bouillon entstanden auch hier grobe Massen. Auch dieser Stamm ist virulent und behält diese Eigenschaft in folgenden zwei Versuchen. In trocknender Bouillon während 3 Wochen bei 35°, ebenso während 8 Wochen bei 22° gehalten, tötete er Meerschweinchen in 4, bzw. 2 Tagen.

Ein frischer Stamm 1200 wurde mittels Glyzerinagarplatten reinkultiviert. Er zeigte sich als virulent und behielt die Virulenz in trocknender Bouillon während 2 Monaten sowohl bei 35° und 22°, als bei Zimmertemperatur. Ein anderer frischer Stamm 1199 war ebenfalls virulent und zeigte sich ebenso in trocknender Bouillon während 8 Wochen bei 22°. In der trocknenden Kultur sehen wir körnige Stäbchen in kleinen Häufchen, einige wenige feine kurze Nädelchen nebst Häufchen von geschwollenen Stäbchen und groben Bildungen.

Von einer an Krupp gestorbenen Person wurde ein Diphtheriestamm reingezüchtet. Derselbe blieb für Meerschweinchen 6 Wochen virulent sowohl in trocknender Bouillon bei 35° wie bei Zimmertemperatur.

## Vergleich mit der Umformung anderer pathogener Bakterien.

Vor kurzem hat Almquist seine betreffenden Studien über Darmtyphus veröffentlicht und dabei auch die Umformung anderer pathogenen Bakterien sowie auch die Literatur besprochen.[1]

Die Erreger von Typhus, Cholera und Diphtherie entwickeln sowohl exogene Bildungen wie Bakterienplasmodien in reichlicher Menge. Bei

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. LXXXIII. S. 1.





den erstgenannten Krankheiten zeigen sich die Plasmodien wie dicke, geschwollene Fäden, bei der Diphtherie als größere, ungeformte Massen. Auch ein Teil der exogenen Kugeln kann als solche Massen betrachtet werden. B. typhi und die Varietäten von B. dysenteriae entwickeln aus den großen Kugeln die feinsten Formen, die mit Fuchsin schwer zu färben sind. Bei allen drei Krankheiten keimen die kleinen exogenen Kugeln, die Konidien, zu Stäbchen oder Spirillen aus. Die Kugeln sind keine Dauerformen.

Bei B. coli aus menschlichen Fäkalien ist es nicht gelungen, exogene Bildungen hervorzubringen, und bei B. paratyphi B äußerst selten. Diese Arten wachsen bei 10° recht üppig. Theobald Smiths B. suipestifer verhält sich anders, wächst kaum bei 10° und produziert reichlich sowohl große wie kleine exogene Kugeln. Die Verwandtschaft aller dieser Arten muß von Neuem und mit besseren Methoden geprüft werden.

In der Abhandlung von Koraen wird der Beweis erbracht, daß auch die Mikrokokken schöne exogene Bildungen hervorbringen können.[1] Auf frischem Agaragar keimen diese Konidien schnell zu Kokken aus. Diese neuen Bildungen sind im Mikroskope leichter als nach Färbung zu studieren und beobachten. Die Erklärung liegt vielleicht darin, daß die langen Stiele der Konidien sich nicht, ebensowenig wie diejenigen bei B. typhi, färben lassen.

Löfflers Bacillus geht in trocknender Nahrung zu dicken, ungeformten Massen über, die feinste Formen hervorzubringen scheinen, um schließlich zu den normalen Stäbchen zurückzukehren. Feine exogene Bildungen kommen auch vor, scheinen aber keine andere Bedeutung zu haben, als eine Art von Verzweigung. Im Gegensatz können bei Typhus, Dysenterie und Cholera, sowie auch bei einigen Mikrokokken ganze Kulturen in exogene Kugeln und Konidien umgewandelt werden.

Löfflers Bacillus bildet eine Art von Ruheform, die wir Oidien benannt haben, weil die Stäbchen wie in kleinste Teile eingeteilt werden. Die feinen Oidien und die feinen exogenen Bildungen der Diphtherie sind schwer im Mikroskope zu beobachten. Dagegen treten sie nach Färbung und Photographieren gut hervor.

Bei den studierten pathogenen Bakterien geschieht die Umformung unter verschiedenen Verhältnissen. Temperatur, Trockenheit, Salzgehalt, Nahrung sind die maßgebenden Faktoren. Die Umformung hat große Bedeutung für den Parasitismus. Die unendlich große Anzahl der entstandenen kleinen Formen macht Verbreitung sowie Infektion neuer

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. LXXXV. S. 359.



Individuen leichter. Die Umformung bei saprophytischem Wachstum erhöht nicht selten die Virulenz, wie Olssen für die Cholera, Koraen für den Typhus und wir jetzt für die Diphtherie gefunden haben.

Für das saprophytische Dasein kann die Umformung bedeutende Vorteile bieten. Das hübscheste Beispiel davon gibt uns die von Koraen entdeckte Regeneration von Micrococcus Thulini.

## Vergleich mit saprophytischen Bakterien.

In den letzten 15 Jahren haben sich im hiesigen Hygienischen Institut öfters Bakterienformen gezeigt, die sich nicht unter die konventionell begrenzten Formen der Bakterien einpassen lassen. Sie sind protoplasmatischen Massen ähnlich, können als kurze, grobe Mycelien oder ungeformte, dicke Stäbchen usw. erscheinen. Nicht selten bringen saprophytische Stäbchen und Fäden exogene Bildungen hervor. Bakterienplasmodien und Bakterienkonidien sind also unter den Saprophyten nichts Ungewöhnliches.

1914 lieferte Löhnis den Beweis, daß die früher bekannten groben Zellen von Azobakter eine Entwicklungsform des endosporbildenden Bacillus azobacter ausmachen. Neulich hat derselbe zusammen mit Smith neue Untersuchungen über 24 Kulturen von diesem Bacillus und 18 anderen saprophytischen Arten veröffentlicht.[1] Bei allen Bakterien finden sie ähnliche Variationen in bezug auf Form und Biologie. Nach den Verfassern leben die Bakterien alternierend als Zellen und in ,,amorphem" Zustande, was Symplasm genannt wird. Die amorphen Massen sind durch Mischung oder Zusammenschmelzen der Zellen entstanden und sind manchmal leicht, manchmal schwer zu färben. Auch exogene Bildungen sind angetroffen und werden als Exosporen oder Gonidien bezeichnet. Einige wenige Versuche sind vorgenommen, das ,,Symplasm" zu filtrieren. In keinem Falle gelang es, die Ursprungsart im Filtrat wiederzufinden.

In diesen ,,neulich" gemachten Entdeckungen der Verfasser finden wir verschiedenes, was in der eben behandelten Literatur schon längst veröffentlicht worden ist, und was also frühere Beobachtungen bestätigen. Das Resultat der Filtrierungen stimmt gewissermaßen mit den 1911 von Almquist veröffentlichten Resultaten über 100 Filtrierungen von B. typhi und den oben erwähnten Filtrierungen von B. diphtheriae. Niemals wurde die Ursprungsart im Filtrate wiedergefunden.

[1] *Journal of Agricultural Research.* 1916. Das Heft den 31. Juli datiert.





1902 versuchte v. Esmarch in seiner Umgebung filtrierbare Formen zu finden, aber fast vergeblich. Nur das Spirillum parvum konnte er dabei ausfindig machen. Die Erfahrung von Almquist[1] geht in anderer Richtung. Recht oft wurden in den Filtraten der verschiedenen Kulturen feinste Formen angetroffen. Liegt nun der Unterschied der Resultate darin, daß wir im hiesigen Laboratorium uns so viel mit Bakterienplasmodien beschäftigen, oder daß es uns besser gelungen ist, diese kleinsten Wesen zu kultivieren? Kommen diese Wesen allgemein vor und können sie durch die Baumwolle passieren? Die filtrierbare Form, B. antityphosum, die Almquist 1911 beschrieb und seitdem beobachtet hat, scheint mit aller Wahrscheinlichkeit einen Mutant von B. typhi auszumachen.

## Übersicht.

Eine Kultur von durch Einzellkultur gewonnenen Diphtheriestäbchen wurde während fünf Jahren in Laktatbouillon kultiviert. Das Stäbchen behielt dabei sowohl Virulenz wie Form. In frischen Kulturen bildete diese Kultur körnige, recht lange Stäbchen, die in Laktatbouillon bei 35° allmählich in feine Oidien übergingen, die, auf Schweinsserum gebracht, nach 24 Stunden neue hübsche Stäbchen entwickelten. Auch in anderen Medien bilden sich dieselben Oidien sowohl bei 35°, wie bei Zimmertemperatur.

In trocknender Bouillon und anderen trocknenden Nährmedien bildeten sich dicke Massen von verschiedenen Formen aus. Diese scheinen in frischer Nahrung sich zuerst zu feinen Bildungen und schließlich zu guten Stäbchen zurückzubilden. Die so gewonnenen Stäbchen haben die Virulenz beibehalten.

In Agarplatten wachsen die Kolonien bei Zimmertemperatur in einer Woche sichtbar aus, nach zwei oder drei Wochen sind sie groß. Bei 10° leiden die Diphtheriebakterien bedeutend und scheinen zugrunde zu gehen.

Ein körniges, virulentes Stäbchen kann in der Kultur in eine Form von kleinen, 1 bis 2 $\mu$ messenden, avirulenten Nädelchen übergehen. Diese Nädelchen haben eine zähe Konstanz und sind in Laktatbouillon und anderen Medien nicht zu körnigen Diphtheriestäbchen zurückgegangen.

Bei Kultur in trocknender Bouillon konnten die Nädelchen jedoch bei niedriger Temperatur zu dicken Formen umgewandelt werden und dabei die Virulenz wiedergewinnen.

[1] *Sv. Läkaresällskapets Handl.* 1917. Bd. XXII. S. 7.



Hier öffnet sich eine Möglichkeit für erfolgreiche Untersuchungen über die avirulenten Formen der Diphtheriebakterie sowie über ein Wiedergewinnen der Virulenz der Diphtheriebakterie im allgemeinen. Die Erfahrung über die Diphtherieepidemien zeigt nämlich auf eine gesteigerte Virulenz dieser Bakterie, die durch unsere Kenntnisse bis jetzt nicht erklärt werden kann.

## Schlußfolgerungen.

1. Die Einzellkultur der einzelnen Formen der Diphtheriebakterie ist nötig, um die verwickelte Biologie und Morphologie derselben aufzuklären.

2. Das giftige, körnige Stäbchen bildet eine Ruheform wie feinste Oidien, die in frischer Nahrung sogleich wieder körnige Stäbchen bilden.

3. In trocknender Nahrung, Bouillon oder Serum und dergleichen, bilden sich aus den Stäbchen grobe, verschieden geformte Massen. Die in frischer Nahrung wieder erscheinenden Stäbchen haben die Virulenz beibehalten.

4. Die Stäbchen wachsen auch bei Zimmertemperatur. In einer Agarplatte sind nach einer Woche die Kolonien sichtbar, nach zwei bis drei Wochen groß.

5. Das gewöhnliche, körnige Stäbchen kann zu avirulenten, kurzen, feinen Nädelchen umgewandelt werden, die eine zähe Konstanz besitzen.

6. Diese avirulenten Nädelchen formen sich in trocknender Bouillon bei niedriger Temperatur um, bilden zum Teil grobe, ungeformte Massen und werden virulent.

---



# Erklärung der Abbildungen.

**(Taf. IV—VI.)**

Alle Bilder sind mit Fuchsin gefärbt und 1000mal vergrößert. Alle bilden sie den Erreger der Diphtherie ab.

## Tafel IV.

**Fig. 1.** Stäbchen während 2 Wochen bei 18° auf Gipsblöcken mit Laktatbouillon benetzt. Feine Oidien in Ketten nebst einzelnen gröberen Oidien.

**Fig. 2.** Dasselbe, aber die Blöcke sind nur mit Wasser benetzt, bei 25° Oidienbildung.

**Fig. 3.** Alte Laktatbouillonkulturen, auf Schweinsserum 2 Stunden ausgewachsen. Die feinen Oidien meistens unverändert; gespitzte Stäbchen in Bildung.

**Fig. 5.** Stamm aus Einzellkultur, wie alle folgenden Figuren. Nach 2 Stunden auf Schweinsserum fangen die Oidien der Laktatkultur an, zu Stäbchen auszuwachsen.

## Tafel V.

**Fig. 4.** Wie Fig. 3 nach 24 Stunden. Die Stäbchen meistens ausgewachsen.

**Fig. 6.** Dasselbe wie Fig. 5 nach 24 Stunden. Stäbchenbildung fast fertig.

## Tafel VI.

**Fig. 7.** Dasselbe nach 4 Tagen bei 35°. Die Stäbchen bilden wieder Oidien; hier und da feine exogene Bildungen.

**Fig. 8.** Dasselbe nach 5 Tagen, Oidien aus den Stäbchen gebildet.

**Fig. 9.** Dasselbe nach 3 Wochen. Dickere und feinere Oidien.

**Fig. 10.** Bouillonkulturen während 2 Monaten bei 35° eingetrocknet. Grobe, oidienähnliche Massen nebst Stäbchen.

**Fig. 11.** Die Kultur von Fig. 10 während 12 Stunden bei 35° auf Schweinsserum gewachsen. Grobe Bildungen und sehr feine Formen.

**Fig. 12.** Dasselbe wie in Fig. 11 nach 24 Stunden. Diphtheriestäbchen. Einige dicke Oidien geblieben.





# Studien über Umformung von Mikrokokken in trocknender Kultur.

Von

Privatdozent **Gunnar Koraen**
in Stockholm.

(Hierzu Taf. VII u. VIII.)

Seitdem die mächtige Einwirkung der Trockenheit auf verschiedene pathogene Bakterien erwiesen worden war, wurde es nötig, die Wirkung derselben auch in bezug auf die Mikrokokken zu prüfen. Almquist und Thulin haben diese Arbeit zuerst angefangen und folgende Photographien zu meiner Verfügung gestellt.

Fig. 1 (Taf. VII) zeigt Traubenkokken zum Teil mit feinen exogenen Auswüchsen, wie kleinsten, gestielten Kügelchen. Einige derselben liegen frei, vereinzelt oder in kleinen Häufchen. Das Präparat ist aus einer etwa einen Monat alten Agarplatte bei Zimmertemperatur genommen. Die Figg. 1 bis 5 gehören alle zum Staphylococcus pyogenes aureus, Stamm 2.

Wenn die besprochene Agarplatte ein paar Wochen älter wird, finden wir wenige typische Eiterkokken in den Kolonien und hauptsächlich kleine Häufchen von feinsten Kügelchen, die miteinander wie durch kurze, feine Fäden verbunden sein können (Fig. 2, Taf. VII).

Die kleinsten Kokken bilden sich zu den gewöhnlichen Traubenkokken sehr schnell zurück. Schon nach wenigen Stunden geschieht dies auf Agaragar bei 35°. Figg. 3 und 4 veranschaulichen diesen Verlauf. Nach einer Stunde sehen wir mittelgroße Kokken und auch gewöhnliche Eiterkokken. Einige Kokken haben exogene Bildungen hervorgebracht. Nach 2 Stunden ist die Erscheinung noch schöner, die kleinen Kokken liegen oft in kurzen Ketten angeordnet und hängen mit den größeren zusammen. Nachdem die kleinen Bildungen einen Tag auf trocknendem Agaragar bei

Zimmertemperatur gewachsen sind, finden wir die eben besprochene Entwicklung wieder. Dieselbe ist in A und B Fig. 5 (Taf. VII) schön abgebildet.

Figg. 6 bis 9 zeigen das Aussehen von Micrococcus Thulini, der unten näher beschrieben worden ist. In Fig. 6 finden wir sehr große Kokken in Haufen; dieselben sind einen Tag auf Agaragar bei 35° gewachsen. Einige kleine Bildungen liegen neben den großen, von denen einige wie leer aussehen. Nach vier und fünf Tagen sind die Kokken im allgemeinen viel kleiner geworden und nähern sich dem Typus eines Streptococcus (Fig. 7. Taf. VIII). Wenn diese Kokken zwei Wochen in Bouillon bei 35° gewachsen sind, so finden wir große Mengen von feinsten Formen, die den exogenen Bildungen von S. pyogenes entsprechen und in Fig. 8 (Taf. VIII) abgebildet werden. Nachdem dieselbe Kultur 4 Wochen alt geworden, und die Bouillon eingedickt worden ist, finden wir darin sowohl kleine wie auch Haufen von großen Kokken (A und B Fig. 9, Taf. VIII). Die letztgenannten Kokken wachsen auf Agaragar, wie Fig. 6 veranschaulicht.

## Beschreibung der untersuchten Mikrokokken.

### A. Staphylokokken.

#### 1. Aus einem Furunkel.

Von einer Person, die seit der Kindheit zeitweise sehr an Furunculosis gelitten hat und dann in den Geschwüren einen sehr virulenten Stamm von S. pyogenes aureus beherbergte, wurde im letzten Frühling aus einem Furunkel ein charakteristischer Stamm der genannten Art reingezüchtet. In einer bei Zimmertemperatur stehenden Agarplatte mit einer mäßigen Anzahl von Kolonien wurden die Veränderungen der Kokken genau beobachtet. In den ersten Wochen fand ich nichts Bemerkenswertes weder in den oberflächlichen, noch in den Tiefkolonien, also nur gewöhnliche Eiterkokken. Nach 4 bis 6 Wochen, als der Agaragar angefangen hatte trocken und hart zu werden, fanden sich in vielen, aber nicht in allen Kolonien sowohl gewöhnliche Eiterkokken wie auch Häufchen von kleinsten, kugelförmigen Bildungen. Einige der letztgenannten standen mittels eines feinen Stieles in Verbindung mit einem Eitercoccus und waren also exogen gebildet worden. Einige Eiterkokken zeigten mehrere solche Auswüchse, öfters zwei gestielte Kleinkügelchen, die vom Coccus schräg in entgegengesetzter Richtung hervorsprossen. Manchmal sah ich, wie der am Eitercoccus festsitzende Kleincoccus noch zwei gestielte Kleinkokken trug. Diese Bildungen ließen sich im hängenden Tropfen ohne Färbung besonders schön beobachten.



### 2. Staph. pyogenes aureus aus Bakteriurie.

Ein hiesiger Arzt, der seit 10 Jahren an Bakteriurie leidet, hat die betreffende Art als S. pyogenes aureus diagnostiziert. Dieselbe wurde im Winter frisch aus dem Urin gezüchtet; nur eine Art wurde dabei in den Agarplatten angetroffen. Nach etwa einem Monat fanden sich in den Platten nicht nur die Eiterkokken, sondern auch äußerst kleine Kügelchen, die sich von den Kokken exogen entwickelten und mittels eines kleinen Stieles mit diesen vereinigt waren. Manchmal sah ich die kleinsten Bildungen wie in einer Reihe nacheinander, manchmal war der Eitercoccus wie in Kleinkokken verzweigt. Sehr oft gingen mehrere Kleinkokken vom selben Coccus aus.

Die feinsten Formen wurden zuerst in den Tiefkolonien, nach kurzer Zeit auch in den oberflächlichen angetroffen. Wenn aus Kolonien mit vielen kleinsten Bildungen Schrägagarkulturen angelegt wurden, sah ich nach einem Tag bei 35° nur gewöhnliche Eiterkokken.

### 3. Staph. pyogenes aureus aus Ekzem.

Von einem einfachen, chronischen Ekzem mit geringer Verbreitung wurden in diesem Winter Kokken frisch reingezüchtet. In den Agarplatten entwickelten sich viele Kolonien, alle, wie es schien, identisch. Von den so erhaltenen Schrägagarkulturen wurden neue Agarplatten angelegt, die in Zimmertemperatur aufbewahrt und oft untersucht wurden. In den ersten Wochen sah ich nur Eiterkokken, nach einem Monat oder mehr, als die Platten zusehends eingetrocknet waren, fand ich in oberflächlichen und auch in tiefen Kolonien zusammen mit den Eiterkokken feinste Kokkenbildungen, die mit den früher beschriebenen völlig übereinstimmten. Sie lagen in kleinen Häufchen, zum Teil hingen sie mittels eines feinen Stieles mit dem Muttercoccus zusammen usw.

### 4. Staph. pemphigi neonatorum (Almquist).

Dieser Coccus ist aus Impetigo contagiosa im Barte eines Mannes im letzten Winter isoliert worden. Eine vereinzelt liegende Kolonie der Agarplatte wurde weitergezüchtet, und die gewonnenen Kokken in die Haut einer erwachsenen Person eingeimpft. Sie zeigten sich imstande, die Epidermis von der unterliegenden Haut zu dissezieren und eine zentimetergroße, flache Blase mit serösem Inhalte zu bilden. Die Kokken waren somit nicht Eiterkokken.

Die in einer Agarplatte entwickelten Kolonien wurden in passenden Intervallen untersucht. In den ersten Wochen fanden sich bei Zimmer-



temperatur nur gewöhnliche Staphylokokken, nach einem Monat, als die Platten recht trocken geworden waren, traf ich die früher beschriebenen feinsten Formen, und zwar teils freiliegend, teils durch einen Stiel mit den Kokken vereinigt. Ja, ich konnte auch die oben erwähnten, verzweigten feinen, mit der Mutterzelle verbundenen Bildungen wieder entdecken.

### B. Micrococcus Thulini (Almquist).[1]

Im Winter 1916 bis 1917 hatte sich eine eigentümliche Infektion in der hiesigen Dragonerkaserne kund getan. Mehrere Soldaten erkrankten nacheinander an einer Form von Angina tonsillaris mit oberflächlichen Wunden an den Zungenrändern und an der Mundschleimhaut; ziemlich gleichzeitig konnten langdauernde Eiterbildungen an der Haut auftreten. Die Ärzte hatten in der Stadt ähnliche Fälle beobachtet. Die Krankheit wurde allgemein mit dem Namen „Dragonerhalsfluß" belegt. So viel bekannt, starb niemand, obgleich die Eiterbildung nur allmählich beseitigt werden konnte.

Der als Histologe rümlichst bekannte Doktor Ivar Thulin diente eine Zeitlang als Arzt der betreffenden Kaserne und holte auf Verlangen von Professor Almquist im Februar Material für die Untersuchung ins hygienische Institut. Thulin brachte von mehreren Kranken Proben, die reingezüchtet wurden. Alle Stämme scheinen miteinander völlig identisch zu sein. In den Wunden sah Thulin recht lange Streptococcusketten, bei Kultur auf Agaragar traten dieselben im Anfang als sehr große Traubenkokken auf. Thulin starb plötzlich während der Untersuchung; Almquist hat dem, wie es scheint, früher nicht beschriebenen Coccus den Namen M. Thulini gegeben.

Wie gesagt, bildeten diese Kokken auf Schrägagar zuerst dicke Schichten von sehr großen Kokken. Die Kultur war dann weiß mit gelblichen Rändern. Bei Weiterimpfung auf Agaragar hörten die Kokken schnell zu wachsen auf, die Schicht wurde dünner und dünner, und das Aussehen der Kokken ähnelte dann einem Streptococcus mit kurzen Ketten. Auch in Agarplatten wuchs er dann kümmerlich.

Ich habe die drei Stämme von Thulin untersucht und überdies noch einen Stamm, den ich nach dem Tode Thulins in seiner Wohnung bei einer dort wohnenden Person antraf. Die Person erkrankte an Angina mit oberflächlichen Wunden an den Zungenrändern. Dieser Stamm zeigte sich zuerst als ein Streptococcus mit kurzen Ketten und bildete in Agar-

[1] *Sv. Läkaresällsk. Handlingar.* 1917. Bd. XXII. S. 5.



platten kleine graue Kolonien. Nach einigen Wochen, bei Zimmertemperatur, wuchs er auf frischem Schrägagar als dicke, weiße Masse mit gelblichen Kanten und bestand dann aus recht großen Staphylokokken, die den früher beschriebenen und abgebildeten ganz ähnlich waren. Alle vier Stämme wurden danach gleichzeitig wie folgt vorgenommen und kultiviert.

Auf Schrägagar fand ich nach einem Tage bei allen vier Kulturen ziemlich unregelmäßige Haufen von großen Kokken, nach einer Woche traf ich neben diesen Haufen auch kleinere Kokken in kurzen Ketten, die mit den großen Kokken verbunden sein konnten. Bei neuen Überimpfungen entstand manchmal eine dünne Schicht, manchmal blieb das Wachstum aus. In Agarplatten, die einen Monat bei Zimmertemperatur gestanden hatten, fand ich in den Kolonien Haufen von größeren Kokken und äußerst feine Bildungen, die mit den in Kulturen der Eiterkokken angetroffenen gut übereinstimmten. Diese Bildungen machen die Konidien der Art aus. Kolonien, die diese kleinsten Bildungen enthalten, bilden auf Schrägagar überimpft dicke Massen mit gelblichen Rändern, die unter dem Mikroskop Staphylokokken zeigen.

Es war mir also gelungen festzustellen, wie in einem gewissen Nährmedium eine Rasse wieder üppig wachsen kann, nachdem das Wachstum fast völlig ausgeblieben war. Diese Wiederbelebung fand nach Eintrocknung und Konidienbildung statt.

Drei Meerschweinchen wurden im April subkutan mit einer Öse desselben Stammes von M. Thulini geimpft. Die eingespritzte Kultur war frisch bereitet und bestand aus großen Kokken. Kein Tier zeigte Krankheitssymptome, alle überlebten.

## Zusammenfassung.

Es ist mir gelungen, bei allen vier Rassen von S. pyogenes aureus, also bei Kokken aus Furunkeln, Ekzem, Bakteriurie und Impetigo dieselbe Art von Fruktifikation festzustellen. In Agarplatten mit einer mäßigen Anzahl von Kolonien bilden sich nämlich bei Zimmertemperatur nach einem Monat äußerst kleine Konidien, die mit einem Stiel von dem Muttercoccus ausgehen. Die Bildungen sind leicht im Mikroskope zu beobachten und treten ohne Färbung schön hervor. Einen Unterschied in der Fruktifikation zwischen den vier genannten Rassen habe ich nicht beobachten können. Auch in dieser Hinsicht sind also die morphologischen Charaktere dieser Rassen dieselben. Nach den sorgfältigen Untersuchungen von



Moberg[1] bilden dieselben nach intravenöser Einspritzung in die Blutbahn des Kaninchens genau dasselbe Agglutinin. Diese Rassen stehen einander also sehr nahe; sie wachsen jedoch nicht alle in derselben Art aus. wenigstens eine der Rassen ist nämlich konstant verschieden.

Almquist[2] fand schon 1891, daß die von Pemphigus neonatorum reingezüchteten Kokken sich bei Einimpfung in die Haut eines Menschen ganz anders verhalten als die morphologisch ganz gleichen Eiterkokken. Die Pemphiguskokken zeigten sich nämlich imstande, die Epidermis oberflächlich recht weit zu dissezieren, so daß eine seichte, klare, seröse Blase entstand. In Amerika sind diese Versuche mehrmals mit demselben Resultat nachgemacht. In einigen deutschen Lehrbüchern ist die Bedeutung dieser Kokken auch anerkannt. Dagegen wird in dem bekannten Handbuch von Kolle-Hetsch Zweifel ausgesprochen, ob die Kokken rein gezüchtet worden sind. Dieser Zweifel ist um so eigentümlicher, als die Reinkultur dieser Kokken mit eben derselben Methode gewonnen ist, wie bei so vielen anderen anerkannten pathogenen Bakterien, und da die betreffenden Kokken so leicht zu emulgieren sind.

Edvard Welander und Almquist[3] haben zusammen Kokken sowohl von Impetigo contagiosa wie Pemphigus neonatorum nach Reinzüchtung untersucht. Bei Menschen rufen beide Rassen die gleichen, oberflächlichen, serösen Blasen hervor. Bei Kaninchen fanden die Verfasser auch ähnliche Veränderungen bei beiden Rassen und zwar sowohl in den Nieren wie an den Herzklappen. Beide sind also identisch anzusehen und stehen den gewöhnlichen Eiterkokken sehr nahe.

Wie nahe aber auch die Eiterkokken und S. pemphigi neonatorum zueinander stehen, sind sie doch voneinander in einem Charakter konstant verschieden. Dieser Charakter ist nicht morphologisch. Almquist hat deshalb seine Art unter die biologischen Arten eingereiht; unter den pathogenen Bakterien ist sie vielleicht die zuerst beschriebene biologische Art. Unter parasitischen Pilzen sind solche Arten, wie bekannt, sehr zahlreich.

Micrococcus Thulini hat mehrere Formen. Als großer Coccus wächst er als Staphylococcusmasse in dicker Schicht auf Schrägagar. Bei fortgesetzten Überimpfungen verändert er sich schnell, tritt nunmehr in Form mittelgroßer Kokken in kurzen Ketten auf und wächst dünner und dünner, bis er ganz aufhört, auf diesem Medium sich zu vermehren. In der Agar-

[1] *Hygiea.* 1905. S. 101. Stockholm.

[2] *Diese Zeitschrift.* Bd. X. S. 253.

[3] *Sv. Läkaresällskapets Förhandl.* den 11. April 1899.

platte bildet er nach etwa einem Monat kleine Konidien, die wohl ähnlich, jedoch nicht identisch mit denselben Bildungen bei den Eiterkokken zu sein scheinen. Nach Eintrocknung und Konidienbildung wächst die Art wieder üppig auf Agaragar und entwickelt große Staphylokokken.

M. Thulini hat, nach allem zu urteilen, eine unerhört große Fähigkeit sich von Person zu Person zu verbreiten. Bei dem infizierten Menschen hat er sich sehr lange Zeit halten können. Er ist dagegen für Meerschweinchen nicht giftig.

## Schlußfolgerungen.

1. S. pyogenes aureus entwickelt nach einem Monat in der Agarplatte bei Zimmertemperatur kleinste exogene Bildungen, Konidien, die in frischer Nahrung wieder zu Eiterkokken auswachsen.

2. Bei dieser Fruktifikation gibt es keinen sichtbaren Unterschied zwischen Kokken von Furunkeln, Bakterurie, Ekzem und Impetigo.

3. Die Impetigokokken unterscheiden sich von den übrigen nur durch ihre spezifische Wirkung auf die Haut, sie machen also keine morphologische, wohl aber eine biologische Art aus.

4. Micrococcus Thulini hat mehrere Wuchsformen, tritt teils in Form großer Staphylokokken, teils kleinerer Kokken in kurzen Ketten auf und bildet schließlich exogene Konidien.

5. M. Thulini verliert schnell die Fähigkeit, auf Agaragar sich gut zu vermehren, gewinnt aber nach Eintrocknung und Konidienbildung diese Möglichkeit wieder.

6. Alle untersuchten Kokken bilden beim Eintrocknen Konidien.

7. Es ist anzunehmen, daß die äußerst kleinen Konidien große Bedeutung für Infektion, Verbreitung und Lebenserhaltung besitzen.

8. Bei einem Micrococcus konnte ich nach Trockenwerden eine höchst wichtige Regeneration konstatieren.



# Erklärung der Abbildungen.

## Tafel VII u. VIII.

Alle Figuren sind mit Fuchsin gefärbt und 1000 mal vergrößert.

### Tafel VII.

**Fig. 1.** Staphylococcus pyogenes aureus, etwa einen Monat in einer Agarplatte bei Zimmertemperatur gewachsen. Traubenkokken, zum Teil mit feinen exogenen Bildungen; zum Teil liegen die feinen Bildungen frei oder in Häufchen.

**Fig. 2.** S. pyog. aur., aus derselben Agarplatte ein paar Wochen später präpariert. Wenige Kokken; Häufchen von feinen Kügelchen, die oft durch feinste Fäden miteinander verbunden sind.

**Fig. 3.** S. pyog. aur., die feinen Kügelchen in Fig. 2, eine Stunde bei 35° auf Agaragar gewachsen. Kleine Kügelchen und Eiterkokken, zum Teil mit exogenen Bildungen.

**Fig. 5 A und B.** S. pyog. aur., die feinen Kügelchen in Fig. 2 einen Tag auf trocknendem Schrägagar bei Zimmertemperatur gewachsen. Feinste Kokken, teils miteinander, teils mit Traubenkokken zusammenhängend.

**Fig. 6.** Micrococcus Thulini ist 5 Tage in einer Agarplatte bei Zimmertemperatur und darauf einen Tag auf Schrägagar gewachsen. Große Kokken in Haufen, zum Teil mit kleineren Bildungen zusammenhängend.

### Tafel VIII.

**Fig. 4.** S. pyog. aur., wie in Fig. 3 zwei Stunden gewachsen. Traubenkokken und kleinere Kokken, die oft in Ketten geordnet sind und mit den größeren Kokken zusammenhängen.

**Fig. 7.** M. Thulini, wie Fig. 6 in einer Agarplatte 1 Tag bei 35° und 4 Tage bei Zimmertemperatur gewachsen. Größere und kleinere Kokken zusammenhängend, die letzteren bilden kurze Ketten.

**Fig. 8.** M. Thulini, zuerst zwei Monate in einer Agarplatte bei Zimmertemperatur und nachher 2 Wochen in Bouillon bei 35° gewachsen. Feinste Formen miteinander zusammenhängend. Einige Kokken.

**Fig. 9.** M. Thulini, wie in Fig. 8, aber 4 Wochen in trocknender Bouillon gewachsen. Traubenkokken und feine Bildungen. A und B zeigen dasselbe, aber für größere oder feinere Bildungen eingestellt.





# Über ein farbstoffbildendes Bacterium der Typhus-Coligruppe.

Von

cand. biochem. **Traugott Baumgärtel**.

Während eines gehäuften Auftretens von Paratyphus A-Erkrankungen, die klinisch im allgemeinen das Bild eines mittelschweren Abdominaltyphus boten, gelangten auch einige Fälle zur Beobachtung, bei welchen aus der in steriler Rindergalle angereicherten Blutprobe Stämme gezüchtet wurden, die zwar in der ersten Ausstrichkultur auf den üblichen differentialdiagnostischen Typhusnährböden [Endo (1), Conradi-Drigalski (2), Kongorotagar (3) usw.] das für laktoseindifferente Bakterien typische Kolonienbild zeigten, jedoch infolge ihres abweichenden kulturellen und serologischen Verhaltens nicht als Bact. paratyphi A [Schottmüller (4)] angesprochen werden konnten.

Morphologisch handelte es sich hierbei um leicht bewegliche, gramnegative Kurzstäbchen mit fast isodiametrischer Ovalform und deutlich plasmolytischer Polfärbung. Nicht selten lagen die Kurzstäbchen paarweise zusammen; vereinzelt wurden auch Stäbchenketten beobachtet.

Biologisch zeigten die Kulturen teils die Eigenschaften des Bact. typhi [Eberth (5), Gaffky (6)], teils die des Bact. paratyphi A [Brion-Kayser (7)], so daß an eine der eigentümlichen Zwischenstufen „gasloser Paratyphusstämme" gedacht wurde, wie sie mehrfach im Verlaufe der Epidemie und auch anderweitig [Oette (8), Ohne (9), Wagner (10) usw.] beobachtet worden sind.

Serologisch verhielten sich die Stämme bis auf schwache Agglutination im Typhusimmunserum völlig uncharakteristisch; auch konnten im Eigenserum keine spezifischen Antikörper mittels Agglutinationsreaktion, Komplementablenkung oder bakterizidem Plattenversuch nachgewiesen werden.



In der Annahme, daß eine „atypische" und „hypagglutinable" Form des Paratyphus vorlag, wurde versucht, die biologischen Eigenschaften der Stämme durch Heranziehung der verschiedensten Kulturmedien schärfer abzugrenzen und ihre Agglutinabilität durch wiederholte Agarpassagen zu steigern. Indessen bestätigten diese Untersuchungen den ursprünglichen Befund und ließen erkennen, daß es sich um einen Farbstoffbildner handelte, dessen chromogene Funktion sich erst in älteren Kulturen durch Bildung eines eigelben bis rostbraunen Farbstoffes geltend machte. Da diese Farbstoffbildung auf sämtlichen alkalischen, festen Nährböden beobachtet wurde, konnte dieselbe als streng spezifische Arteigenheit der Stämme gelten, und unter Berücksichtigung der biologischen Stammeigenschaften angenommen werden, daß es sich um ein farbstoffbildendes Bacterium der Typhus-Coligruppe handelte.

Wenngleich dieser Befund als Zufälligkeit angesprochen und zu seiner Erklärung an einen verunreinigenden Gallenkeim gedacht wurde, so war demgegenüber neben dem kulturellen Verhalten der Stämme doch bemerkenswert, daß einerseits dieselben teilweise auch aus den Stuhlproben der erwähnten Fälle gezüchtet, und andererseits für diese letzteren kein anderweitig bakteriologisch oder serologisch positiver Befund erhoben werden konnte. Auch durfte auf Grund der Biologie der gezüchteten Stämme irgendwelche Artverwandtschaft derselben mit den bekannten Farbstoffbildnern, wie Bact. ochraceum [Zimmermann (11)], Bact. chrysogloea [Zopf (12)], Bac. bruneus rigensis [Bazarewski (13)] usw., ausgeschlossen werden. Die kulturelle Untersuchung ergab vielmehr eine auffallende Ähnlichkeit mit den von v. Hövell (14) und Köhlisch (15) aus Stuhl gezüchteten „typhusähnlichen, farbstoffbildenden Bakterien" und ließ, da Köhlisch dieselben auch im Blut und für diese im Eigenserum spezifische Antikörper nachweisen konnte, vermuten, daß die Farbstoffbildner der vorliegenden Fälle mit den von Köhlisch isolierten Stämmen identisch waren und möglicherweise gleichfalls die Rolle eines Krankheitserregers gespielt hatten.

Diese Vermutung bestätigte sich in der Folgezeit bei einer Reihe weiterer Fälle, die klinisch gleichfalls das Bild eines mittelschweren Abdominaltyphus boten, ohne daß der kulturelle oder serologische Nachweis irgendeines der bekannten Krankheitserreger aus der Typhus- oder Paratyphusgruppe erbracht werden konnte. Indessen gelang bei insgesamt 26 Fällen die Züchtung der charakteristischen Farbstoffbildner, und zwar 12mal aus Blut, 9mal aus Stuhl und 5mal aus Urin; bei 9 Fällen ergab die Nachuntersuchung gleichfalls ein positives Ergebnis. Als Besonderheiten sind hervorzuheben, daß die Farbstoffbildner in einem Falle als

Reinkultur im Stuhl angetroffen und bei einem weiteren Falle mit Rezidivbildung zweimal innerhalb eines Zeitraumes von 10 Tagen aus Blutgalle gezüchtet wurden.

Während sämtliche (37) farbstoffbildenden Stämme in den verschiedensten Normalsera Typhusschutzgeimpfter sowie in den Paratyphus- und Gärtnerimmunsera durchschnittlich nur bis zur Verdünnung 1:50 agglutinierten, wurden dieselben vom homologen Patientenserum sowie im Typhusimmunserum bis zur Verdünnung 1:400 deutlich beeinflußt. Auch ergab der Castellanische Absättigungsversuch völlige Unabhängigkeit dieser Agglutination von dem jeweiligen Gehalt des Serums an Typhusagglutininen, so daß vom gegenwärtigen Standpunkt der Immunitätsforschung dem aus den Untersuchungsproben der vorliegenden Fälle gezüchteten Farbstoffbildner eine ätiologische Bedeutung zugemessen werden darf. Gestützt wird diese Behauptung durch die Tatsache, daß das ausgelöste Krankheitsbild dem klinischen Typhusbild ähnelt, dessen Erreger mit dem in Frage stehenden Farbstoffbildner morphologisch, biologisch und serologisch verwandt sind.

Der Farbstoffbildner ist ein lebhaft bewegliches, gramnegatives Stäbchen von meist gedrungener Gestalt. Fadenbildung wird selten, dagegen regelmäßig Plasmolyse beobachtet. Frisch aus dem Körper gezüchtet entwickeln die Stämme auf den üblichen Typhusnährböden kreisrunde, glattrandige, leicht erhabene und kristallklare Kolonien; späterhin zeigen dieselben ein gelbbraunes Zentrum, das meist von einem grauweißen Schleimwall umgeben ist. Die innere Struktur dieser Schleimwallkolonien bildet ein gelbes Geflecht gewundener Linien, das von einer farblosen Zone mit feinster Granulation und schwacher radiärer Streifung umsäumt ist. Nach längerem Fortzüchten auf künstlichen Nährböden geht die Schleimwallbildung verloren; dagegen gewinnen die Stämme die Fähigkeit einer sofortigen und gesteigerten Farbstoffentwicklung. Durch Tierpassage sowie durch Kultur in flüssigem Nährsubstrat können die ursprünglichen Eigenschaften der Schleimwall- bzw. Farbstoffbildung teilweise wiedergewonnen werden.

Das Bacterium stellt geringe Ansprüche an Temperatur, Nährboden und Sauerstoff. Es wächst auf allen üblichen Nährböden mit alkalischer Reaktion, sowohl bei Brutschrank- als auch bei Zimmertemperatur; unter Sauerstoffabschluß wird kein Farbstoff gebildet, jedoch geht das Farbstoffbildungsvermögen durch die Anaerobiose nicht für immer verloren.

Auf der Agarplatte entwickeln sich kreisrunde, bisweilen ovale Kolonien mit leichter Körnung; nicht selten sind atypische Kolonien, deren innere Zeichnung zahlreiche ringförmige Schraffierungen, vereinzelt





auch „ausgeschwärmte" Bakterien aufweist. Die tiefliegenden Kolonien sind rund bis wetzsteinförmig. Der Agarstich ist fadenförmig, uncharakteristisch; die Auflage ist rundlich, gelb und wächst allmählich zur Glaswand. Der Agarstrich zeigt einen gelben, fettglänzenden Belag; das Kondenswasser ist getrübt.

Die Bouillon zeigt diffuse Trübung und Bildung eines geringen, beim Schütteln sich homogen verteilenden Bodensatzes. Häutchenbildung fehlt. In 5prozentiger Peptonwasserbouillon werden Schwefelwasserstoff (16) und Tryptophan (17), hingegen kein Indol (18) gebildet.

Die Milch wird nicht koaguliert; die Reaktion ist anfangs sauer, später alkalisch. Lackmusmilch sowie Lackmusmolke (19) werden dementsprechend gerötet, später tief blau. Auf der Milchagarplatte entwickeln sich kreisrunde, gelbe Kolonien ohne Aufhellungszone (20), da kein das Milchkasein peptonisierendes Bakteriotrypsin ausgeschieden wird.

Infolge Fehlens dieses proteolytischen Fermentes wird ebenfalls die Gelatine (21) nicht verflüssigt. Die aufliegenden Kolonien der Gelatineplatte sind bis auf ein etwas üppigeres Wachstum ähnlich denen des Typhus bzw. Paratyphus gelappt und gebuchtet; sie erinnern deutlich an die charakteristische „Weinblattform" und besitzen die typische „Hahnentrittzeichnung". Im Klatschpräparat erweisen sich diese „eingeschnittenen" Linien als durch Anhäufung parallel gelagerter Bakterien verursachte Schraffierungen. Der Gelatinestich ist fadenförmig, uncharakteristisch; die Auflage ist rundlich, gelb. Der Gelatinestrich zeigt gleichfalls gelben Belag; das Kondenswasser ist getrübt.

Auf Kartoffel bzw. Glyzerinkartoffel (22) entwickelt sich von der Impfstelle aus ein üppiger, saftig glänzender, gelber Rasen, der zur Glaswand vordringt. Bei längerer Kartoffelkultur werden die Stäbchen plump und wachsen teilweise zu Fäden aus.

Der Farbstoffbildner gedeiht auf Aszites- (23), Gallen- (24), Glyzerin- (25) und Stärkeagar (26) sowie auf Löfflerserum (27). Auf Kreide- (28) sowie Blutagar (29) finden sich um die Kolonien keine Aufhellungszonen, da weder Säure noch Hämolysine gebildet werden. Neutralrot-, Malachitgrün- und Lackmusagar (30) zeigen allmähliche Reduktion dieser Farbstoffe.

Aus den Hexomonosen Dextrose, Lävulose, den Hexobiosen Maltose, Saccharose und dem sechswertigen Alkohol Mannit wird Säure, jedoch kein Gas gebildet. Die Barsiekowlösungen dieser Kohlenhydrate und des Mannits zeigen entsprechend Rötung und späterhin Koagulation. Aus Laktose wird weder Säure noch Gas entwickelt.

Das Farbstoffbildungsvermögen kommt bei Sauerstoffzutritt zur sichtbaren Entwicklung auf allen festen Nährböden, aus deren Bestandteilen



keine größeren Säuremengen entwickelt werden. Demzufolge findet sich zunächst keine Farbstoffbildung auf Dextrose-, Lävulose-, Maltose-, Saccharose- und Mannitagar; sie erscheint auf diesen Nährböden erst nach Verbrauch der säuregebenden Substanzen und somit nach Herstellung der alkalischen Nährbodenreaktion infolge der bei der Eiweißzersetzung stattfindenden Ammoniakbildung. Der Farbstoff erscheint je nach dem gelben, rötlichen oder blauen Untergrund des Nährbodens eigelb bis rostbraun. In den üblichen Farbstofflösungsmitteln, wie Wasser, Methyl-, Äthyl- und Amylalkohol, Äther, Chloroform, Benzol, Toluol, Xylol usw., ist er unlöslich; spurenweise löst er sich in Säuren, leicht dagegen in Alkalien. Die goldgelbe Flüssigkeit, wie sie der mit heißer Kalilauge extrahierte Farbstoff darstellt, besitzt kein charakteristisches Absorptionsspektrum. Der Farbstoff wird von Tierkohle absorbiert und kann mittels Bleiazetat ausgefällt werden.

Die Pathogenität des Farbstoffbildners für Versuchstiere ist gering; sie entspricht etwa derjenigen des Paratyphus A-Bacillus. Die intravenöse Injektion von 1 bis 2 Normalösen 24stündiger Agarkultur ruft bei Kaninchen lediglich Immunkörperbildung hervor; ebenso gelingt die Infektion einer weißen Maus wie des Meerschweinchens weder per os noch durch subkutane Injektion. Für diese Versuchstiere ist bei intraperitonealer Infektion die tödliche Dosis ziemlich groß. Es kommt in diesem Falle zu einer Vermehrung der Bakterien, die im Peritonealsekret, Blut, Urin, Galle, Darminhalt sowie in den inneren Organen nachgewiesen werden können. Der Tod erfolgt infolge Intoxikation.

Ein Vergleich der morphologischen und biologischen Kultureigenschaften des Farbstoffbildners mit denen des Bact. typhi und paratyphi läßt die Zugehörigkeit des farbstoffbildenden Bacteriums zur Typhus-Coligruppe, insbesondere seine Stellung zwischen Bact. typhi und Bact. paratyphi A deutlich erkennen. Es teilt mit diesen Bakterien die Eigenschaften der Gestalt, Beweglichkeit, Gramfärbbarkeit, Wuchsform usw. und besitzt, wie sie, die biochemischen Merkmale in bezug auf Laktoseindifferenz, Milchkoagulation, Gelatineverflüssigung, Hämolysinbildung, Schwefelwasserstoff-, Tryptophan- und Indolentwicklung. Mit Bact. typhi hat der Farbstoffbildner gemeinsam das Fehlen einer Kohlenhydrat- bzw. Mannitspaltung unter Gasentwicklung und unterscheidet sich in Übereinstimmung mit Bact. paratyphi A vom Typhusbacillus durch die Tierpathogenität, den Reaktionsumschlag auf Milchnährböden, die gesteigerte Säurebildung aus Dextrose, Lävulose, Maltose und Mannit sowie das Reduktionsvermögen des Neutralrot-, Malachitgrün- und Lackmusfarbstoffes. Selbst bei größter Variationsbreite der biologischen Kultureigen-





tümlichkeiten, insbesondere der biochemischen Reaktionsgeschwindigkeit und der Entwicklung des Rezeptorenapparates, gelingt die Differentialdiagnose zwischen Farbstoffbildner und „atypischem" und „hypagglutinablem" Typhus oder Paratyphus auf Grund der Farbstoffbildung und der Säureentwicklung aus Saccharose.

Im Einklang mit den kulturellen Analogien des Farbstoffbildners zur Typhus-Coligruppe steht sein serologisches Verhalten. Er besitzt Rezeptoren, die mit denen des Typhusbacillus insofern identisch sind, als durch dieselben einerseits eine Partialagglutination des farbstoffbildenden Bacteriums im Typhusimmunserum und andererseits eine solche der Typhusbazillen im Serum eines gegen den Farbstoffbildner immunisierten Kaninchens hervorgerufen wird. Während die farbstoffbildenden Stämme im Typhusserum teilweise bis zu einer Verdünnung von 1:500 agglutinierten, genügte eine einmalige intravenöse Injektion von einer Normalöse abgetöteter Agarkultur des Farbstoffbildners, um in dem Kaninchenserum Partialagglutinine zu bilden, die eine Typhusbazillenagglutination noch in der Verdünnung 1:800 bewirkten.

Morphologisch, biologisch und serologisch gehört der Farbstoffbildner zur Typhus-Coligruppe. Seine Stellung zu diesen für den Menschen pathogenen Bakterien ist mit Rücksicht auf das klinische Krankheitsbild möglicherweise die einer „Mutationsform", vielleicht aber auch die eines dem ABC der Paratyphustypen weiterhin einzureihenden Bacteriums.

---



## Literaturverzeichnis.


1. Endo, *Zbl. f. Bakt.* Abtlg. I. Orig.-Bd. XXXV. S. 109.
2. Conradi-Drigalski, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXIX. S. 283.
3. Liebermann-Acél, *D. m. W.* 1914. S. 2093.
4. Schottmüller, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVI.
5. Eberth, Virchows *Arch.* Bd. LXXXI u. Bd. LXXXIII.
6. Gaffky, *Mitteil. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* Bd. II.
7. Brion-Kayser, *M. m. W.* 1902. Nr. 15 u. 1906. Nr. 17.
8. Oette, *Zbl. f. Bakt.* Abtlg. I. Orig.-Bd. LXVIII. S. 51.
9. Ohne, *Ebenda.* Abtlg. I. Orig.-Bd. LXXV. S. 288.
10. Wagner, *Ebenda.* Abtlg. I. Orig.-Bd. LXXI. S. 25.
11. Zimmermann, *Die Bakterien unserer Trink- und Nutzwässer.* 1890. Teil I.
12. Zopf, Vgl. Zimmermann, a. a. O. Teil II.
13. Bazarewski, *Zbl. f. Bakt.* Abtlg. II. Orig.-Bd. XV.
14. v. Hövell, *Ebenda.* Abtlg. I. Orig.-Bd. LXXVII.
15. Köhlisch, *Ebenda.* Abtlg. I. Orig.-Bd. LXXVIII.
16. Petri-Maaßen, *Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* Bd. VIII. S. 318 u. S. 490.
17. Erdmann-Winternitz, *Zbl. f. Bakt.* Abtlg. I. Ref.-Bd. XXXIV. S. 75 u. S. 653.
18. Ehrlich, vgl. Böhme, *Ebenda.* Abtlg. I. Orig.-Bd. XL. S. 149.
19. Petruschky, *Ebenda.* Abtlg. I. Orig.-Bd. VI.
20. Eijkman, *Ebenda.* Abtlg. I. Orig.-Bd. XXIX. S. 845.
21. Fermi, *Arch. f. Hyg.* Bd. X, XII, XIX.
22. Nach Krompecher und Zimmermann.
23. Cantani, *Zbl. f. Bakt.* Abtlg. I. Orig.-Bd. LIII. S. 471.
24. Roosen-Runge, *Ebenda.* Abtlg. I. Orig.-Bd. XLIII. S. 520.
25. 5 Prozent Glyzerinzusatz.
26. Eijkman, *Zbl. f. Bakt.* Abtlg. I. Orig.-Bd. XXIX. S. 846.
27. Löffler, *Mitteil. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* Bd. II. S. 461.
28. Beijerinck, *Zbl. f. Bakt.* Abtlg. I. Orig.-Bd. IX. S. 781.
29. Neisser-Wechsberg, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXIX. S. 299.
30. Oldekop, *Zbl. f. Bakt.* Abtlg. I. Orig.-Bd. XXXV. S. 130.




# Befunde von paragglutinierenden Typhus- und Colibazillen.

Von

Dr. **O. Ornstein,**
Assistenzarzt der Landwehr, z. Z. im Felde.

Die bakteriologische Diagnose bei Typhus und Ruhr begegnet im Felde bei einem feldmäßig knapp bemessenen Arbeitsmaterial und Häufung an Arbeit während Epidemien und in verseuchten Gegenden bekanntlich vielfachen Schwierigkeiten.

Eine der bis dahin wichtigsten Proben, die Widalsche, hat einen großen Teil ihrer Bedeutung verloren, seit die Truppen wiederholt durchgeimpft worden sind. Zudem haben sehr viele Leute auch leichten Typhus, Paratyphus oder Ruhr durchgemacht. Das Serum schutzgeimpfter und solcher Personen, die eine Infektion überstanden haben, agglutiniert nicht nur Typhus- bzw. Paratyphus-, sondern oft auch Ruhrbazillen.[1] Durch wiederholte Serumuntersuchung bei demselben Kranken in geeigneten Zwischenräumen und zahlenmäßige Auswertung mit verschiedenen Erregern kann man zwar oft noch diagnostische Resultate erzielen; das wird sich aber häufig nicht durchführen lassen.

Die Züchtung von Typhusbazillen aus dem Blute von Kranken gelingt bei Geimpften viel seltener als bei Nichtgeimpften, ganz abgesehen von dem uncharakteristischen Verlauf vieler Typhusfälle (Häufigkeit des Typhus ambulatorius); mag man nun diese Tatsache mehr der Impfung oder der Durchseuchung zuschreiben. Bei Ruhr gelingt der Nachweis der Erreger besonders in vorgeschrittenen Fällen oft trotz vielfach wiederholter Untersuchung nicht.

Schließlich, mögen auch Typhus- oder Ruhrbazillen aus Stühlen gezüchtet werden, so bleibt es zunächst noch offen, ob es sich um die

[1] Vgl. Schiemann und die dort zitierten Arbeiten.



Erreger der gerade bestehenden Krankheit oder um einen Befund bei Bazillenträgern oder um eine Mischinfektion handelt. Beides ist im Kriege viel häufiger als im Frieden.

Dazu kommt nun noch häufig ein abnormes Verhalten der gezüchteten Stämme bei der Agglutination (Bröckelung, Inagglutinabilität, Mit- und Gruppenagglutination), insbesondere aber auch die sogenannte Paragglutination (Kuhn, Gildemeister und Woithe). Bekannt ist sie längst für Colistämme, die mit Typhus- und Ruhrseren hoch, oft bis zur Titergrenze, agglutiniert werden. Diese Verklebbarkeit bleibt häufig längere Zeit bestehen, soll nach Ansicht der meisten Autoren aber früher oder später doch verloren gehen, im Gegensatz zur Mitagglutination, die z. B. Gärtnerbazillen für Typhusserum zeigen und die als Ausdruck einer gewissen Verwandtschaft angesehen wird. Neuerdings sind von Bärthlein in 6 Fällen Flexnerparagglutinable (paratyphusmitagglutinable) Formen von B. coli mutabile aus Stuhlproben von russischen Gefangenen gezüchtet worden, die vorher an Durchfällen gelitten hatten und aus ruhrdurchseuchten Truppenteilen stammten. Ferner hat kürzlich Gieszczykiewicz bei Stuhluntersuchungen ruhrverdächtiger Soldaten zahlreiche Colistämme gezüchtet, die mit Flexner-, zum Teil auch mit Typhussera paragglutinierten.

Die Auffassung solcher paragglutinablen, besonders der bei Ruhrverdachtsfällen gefundenen Bazillen ist allerdings nicht einheitl ch. Manche Autoren nehmen an, daß z. B. auch aus Traubenzucker Gas bildende, bewegliche Stämme als Erreger von ruhrartigen Erkrankungen anzusehen sind. So fand Manteufel bei Ruhrfällen in Ostafrika neben echten Ruhrstämmen (Flexner- bzw. Y-) drei aus Traubenzucker Gas bildende und schwach bewegliche Stämme, die mit hochwertigem Ruhrserum noch in starken Verdünnungen agglutiniert wurden und diese Eigenschaft nach sehr häufigen Agarpassagen beibehielten. Manteufel hält diese Verklebbarkeit nicht für Paragglutinabilität, sondern vermutet, daß die Stämme mit den Krankheitsfällen in ursächlichem Zusammenhange standen.

Hutt beschreibt Stämme, die auf Drigalskiagar blau wachsen, aus Traubenzucker Gas bilden, und nimmt wegen der hohen Agglutination der Stämme mit einzelnen Pseudodysenteriesera „ihre Verwandtschaft mit den Pseudodysenteriestämmen bzw. ihrer Abstammung voneinander" an. Er meint, die Stämme könnten sich verändert haben, so daß aus Pseudodysenteriebazillen entweder schon im Darm der Bazillenträger oder während des Wachstums auf Nährböden coliähnliche Gasbilder entstanden seien.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit beschreibt Seligmann eine Anzahl atypischer ruhrähnlicher Bakterienarten, die im Beginn einer Ruhr-



epidemie gezüchtet wurden, und erörtert auf Grund seiner Befunde die Möglichkeit einer Neuentstehung typischer Ruhrbazillen aus saprophytischen Bakterien.

Die in der folgenden Tabelle zusammengestellten Untersuchungen stammen von einem Materiale, das hauptsächlich von deutschen Truppen, zum Teil auch von der Zivilbevölkerung einer wolhynischen Stadt gewonnen wurde. Leider konnte dies Material nur lückenhaft bearbeitet werden; so mag ein gewissenhafter Untersucher manche Probe vermissen, die ihm noch nötig erscheint. Gleichwohl glaube ich, daß einige bemerkenswerte Beobachtungen hinsichtlich der Paragglutination genügend hervortreten.

In die Tabelle 1 sind Untersuchungen über Typhusbazillen eingetragen, die durch Flexnerruhrserum bald schwächer, bald stärker, meist bis zum Endtiter des Serums agglutiniert wurden. Die meisten Bazillen wurden aus Stuhl, einige aus Blut oder Organen gezüchtet, und durch die Leichenschau konnte in drei Fällen der anatomische Beweis erbracht werden, daß die Stämme aus Kranken stammten, welche einem schweren Typhus erlagen. Eine der Leichen zeigte im S. Romanum einige Epithelnekrosen und flache, indolente Geschwüre als Reste einer Ruhr.

Bei der Durchsicht der Tabellen wird auffallen, daß einige der ersten Züchtungen an einem Materiale vorgenommen wurden, das von Ruhrkranken stammen sollte. Mit weiterem Materiale von den gleichen Kranken stellte sich dann die klinische Diagnose Typhus ein. Dem Kliniker fiel ein Übergang von ruhrartiger zu typhöser Erkrankung auf, wie er wohl bei Häufung von Darmerkrankungen im Hochsommer und Herbst besonders, auch jedem Truppenarzt des öfteren aufgefallen sein dürfte. Die ersten aus derartigem Materiale gezüchteten Bazillen wurden wegen ihres kulturellen und agglutinatorischen Verhaltens zuerst als Ruhrbazillen angesehen; erst die weitere Untersuchung stellte Beweglichkeit, Agglutination durch Typhusserum und damit die Diagnose Typhusbazillen fest. Die Kranken hatten eben eine leichte Ruhr durchgemacht oder litten an chronischer Ruhr (indolente Geschwüre am Colon, besonders im S. Romanum) und waren dann an Typhus erkrankt.

Die Agglutination der Typhusbazillen durch Ruhrserum war demnach als eine Paragglutination zu deuten, wie auch das Verhalten aus den gleichen Fällen gelegentlich gezüchteter ruhr- und typhusparagglutinabler Colistämme nahelegt.

Diese Colistämme, über die Tab. 2 Auskunft gibt, wurden bei ruhr- oder typhusverdächtigen Fällen am häufigsten statt der Erreger gefunden, und zwar in außerordentlicher Mannigfaltigkeit, was Form, Beweglichkeit



und Wachstum auf Drigalski-Conradiagar, besonders aber die Stärke der Agglutination betrifft. Das lag wohl zum Teil daran, daß die Untersuchung meist erst spät nach Beginn der Erkrankung vorgenommen werden konnte. Vielfach handelte es sich um Schlußuntersuchungen Genesender. Was in der Tabelle sofort auffallen wird, ist die doppelte Paragglutinabilität der meisten Colistämme für Typhus- und Ruhrserum. Ein kleiner Teil dieser Stämme stammt aus Blutgalle, in einigen Fällen von solchen Kranken, bei denen Stuhluntersuchung einen flexnerparagglutinablen Typhusstamm zutage förderte.

Endlich ist zu erwähnen, daß Paratyphus A- und B-Stämme von den wechselseitigen Seren zuweilen stark mitagglutiniert wurden (Tab. 3).

Daß die Paragglutination am ausgesprochensten durch Ruhrserum, weniger durch Typhusserum in Erscheinung tritt, liegt wohl einmal daran, daß Ruhr die verbreitetste Kriegsseuche darstellt, wenn sie auch (als Y-Flexnerruhr, Shigaruhr tritt seltener auf) verhältnismäßig wenig Opfer fordert, sodann aber auch daran, daß bei Ruhr so viele chronische Fälle vorkommen. Gerade in solchen Fällen scheinen sich aber am ehesten Colistämme usw. mit starker und dauernder Paragglutination herauszubilden (Kuhn und Woithe). Gelegentlich steigt die Zahl der Ruhrerkrankungen außerordentlich an; wenn sich die Diagnose meistens auf „Dickdarmkatarrh" zu beschränken pflegt, handelt es sich doch gewöhnlich um leichte Anfälle, gelegentlich auch wohl um Rückfälle von Ruhr. Zu dieser Ruhr tritt häufig genug ein Typhus oder Paratyphus, deren Erreger dann Eigenschaften des Ruhrerregers annehmen. Die Coliflora des Darmes tut dies begreiflicherweise nach beiden Seiten hin; auffälligerweise stärker nach der der Ruhrbazillen hin, was sich vielleicht zum Teil aus dem anatomischen Sitz, zum Teil aus dem chronischen Verlauf der Erkrankung erklärt.

Die Kenntnis vom Wesen der Paragglutination bereichert neben dem wissenschaftlichen Interesse, das sie bietet, unsere diagnostischen Möglichkeiten. Die Paragglutination besteht nach neuerer Erfahrung in viel größerem Umfange, als man bisher allgemein annahm, zumal in Epidemiezeiten. Ja, man kann sagen, daß bei der Untersuchung Darmkranker im Felde, einige Wochen nach Beginn der Krankheit oder in der Genesung, fast nur noch paragglutinable Coli (gelegentlich auch Typhus-, Paratyphusbazillen) auf die Art der überstandenen Erkrankung und das Vorhandensein von Ruhr- oder Typhusbazillen schließen lassen. Man muß dies wissen, um Irrtümer zu vermeiden.

Die Tatsache, daß die Paragglutinabilität eines Stammes nach kürzerer oder längerer Zeit verschwindet, legt den Gedanken nahe, so-



Tabelle

Wo, wie meist bei der ersten Untersuchung, nur 100 + + + ange-
Alle Proben wurden im Reagenzglase angesetzt
+ + + bedeutet sehr starke, + + starke, + noch deutlich sichtbare, ± mit Lupe sichtbare Aggluti-

| Nummer | Datum, Material des Falles | Klinische (eventl. anatomische) Diagnose | Beweglichkeit | Wachstum auf Drigalskiagar | (die wann geprüft | Shiga (1:1000) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 18. XI. 15 Stuhl | Typhus | fast 0 | blau | 1) sogleich<br>2) 3. I. 16 | ●<br>● |
| 2a | 2. XII. 15 Stuhl | Zuerst als Ruhr, dann als Typhus angesehen | + | „ | 1) sogleich<br>2) 26. XII. 15<br>3) 3. I. 16 | —<br>—<br>● |
| b | 8. XII. 15. Blut (Galleröhrchen) | | + | rot | 1) sogleich<br>2) 22. XII. 15 | —<br>● |
| c | 17. XII. 15 Stuhl | | + | blau | sogleich | ● |
| 3 | 7. XII. 15 Stuhl | Dysenterie | ± | „ | 1) sogleich<br>2) 3. I. 16 | —<br>● |
| 4a | 7. XII. 15 Stuhl | Typhus (Widal 100 +, 200 ±) | ± | „ | 1) sogleich<br>2) 22. XII. 15<br>3) 3. I. 16 | —<br>—<br>● |
| b | 7. XII. 15 Blut | | + | rot | 1) sogleich<br>2) 22. XII. 13 | —<br>● |
| 5 | 7. XII. 15 Stuhl | Typhus | + | blau | 1) sogleich<br>2) 3. I. 16 | —<br>● |
| 6 | 16. XII. 15 Stuhl | „ | + | „ | sogleich | ● |
| 7a | 16. XII. 15 Stuhl | „ | + | rot | sogleich | 100 + + |
| b | 23. XII. 15 2. Stuhlprobe | | ? | blau | 1) sogleich<br>2) 24. XII. 15 | —<br>● |
| 8a | 17. XII. 15 1. Stuhlprobe | „ | + | „ | sogleich | ● |
| b | 17. XII. 15 2. Stuhlprobe | | + | „ | sogleich | ● |
| 9 | 17. XII. 15 Stuhl | „ | + | „ | sogleich | ● |
| 10 | 22. XII. 15 Stuhl | „ | + | „ | sogleich | — |
| 11 | 29. XII. 15 Stuhl | „ | + | „ | sogleich | ● |

geben ist, sind weitere Verdünnungen nicht untersucht worden.
nd meist nach 2 Stunden abgelesen.
ation, — keine Agglutination (1:100, wo keine andere Angabe), ● Probe nicht ausgeführt.

| Agglutination mit spezifischen Sera (Ruhrsera sind monovalente Kaninchensera) | | | | | Bakteriologische Diagnose des Stammes | Bakteriolog. Diagnose des Falles |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Flexner (1:3000) | Y (1:6000) | Typhus (1:8000) | Paratyphus B (1:2000) | Krankenserum | | |
| 100 +++ | ● | ● | ● | ● | ruhrparagglutinable | Erst Ruhr, |
| 1000 + 2000 ± | ● | 500 + | ● | ● | Typhusbazillen | dann Typhus. Wahrscheinl. noch Flexner o. Y-Bazillenausscheider |
| 100 +++ | — | ● | ● | ● | ruhrparagglutinable | |
| 100 ++± | — | 100 +++ | ● | 100 ++ | Typhusbazillen | |
| 2000 +++ | ● | 2000+++ | ● | ● | | |
| 100 +++ | — | ● | ● | ● | ruhr- u. typhusparag- | desgleichen |
| 100 +++ | ● | 100 ++ | ● | ● | glut. Colibazillen | |
| 1000 +++ | ● | 1000+++ | 100 ± | ● | ruhrparagglutinable Typhusbazillen | |
| 100 +++ | — | ● | ● | ● | ruhrparaggl. schwer | „ |
| 200++ 500+ | ● | 200 +++ | ● | ● | aggl. Typhusbazillen | |
| 100 +++ | — | ● | ● | ● | ruhrparagglutinable | „ |
| desgleichen | — | 100 +++ | ● | ● | Typhusbazillen | |
| 2000 +++ | ● | 2000 + | ● | ● | | |
| 100 +++ | — | ● | ● | ● | ruhr- u. typhusparag- | „ |
| 100 ±++ | — | 100 ++ | ● | ● | glut. Colibazillen | |
| 100 +++ | — | ● | ● | ● | ruhrparagglutinable | „ |
| 2000 ++ | ● | 2000 + | ● | ● | Typhusbazillen | |
| 1000 ++ | ● | 1000+++ | 100 + | ● | desgleichen | „ |
| 2000 ++ | 100 +++ | 100 +++ 200 — | ● | ● | ruhrparagglutinable Colibazillen | wahrscheinl. noch Ruhr- |
| 100 +++ | — | 100 +++ | 100 ± | ● | ruhrparagglutinable | bazillenträg. |
| 100 ± | ● | 100 ± | ● | ● | Typhusbazillen | |
| 100 +++ 1000 + | ● | 100 +++ 1000 + | 100 ± | ● | ruhrparagglutinable Typhusbazillen | z. Z. Typhus |
| 100 +++ 1000 + | ● | 1000 ++ | 100 + | ● | desgleichen | desgleichen |
| 100 +++ 1000 ± | ● | 100 +++ 1000 + | 100 ± | ● | ruhrparagglutinable Typhusbazillen | erst Ruhr, dann Typhus, wahrscheinl. noch Ruhrbazillenträger |
| 100 +++ | — | 100 +++ | 100 — | ● | ruhrparagglutinable Typhusbazillen | desgleichen |
| 2000 +++ | ● | 500 +++ 2000 + | ● | ● | desgleichen | „ |



Tabelle 1

| Nummer, Datum, Material des Falles | | Klinische (eventl. anatomische) Diagnose | Beweglichkeit | Wachstum auf Drigalskiagar | wann geprüft | Shi... (1:1...) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 12 | 6. I. 16 Blutgalle | Typhus | + | blau | sogleich | • |
| 13 | 14. I. 16 Blutgalle | Typhus | + | blau | sogleich | • |
| 14 | 15. I. 16 Blutgalle | Typhus | + | blau | sogleich | • |
| 15 | 15. I. 16 Leichenorgane (Darm, Milz, Mesenterialdrüsen) | eingebracht als Ruhr, kurz darauf verstorben. Peritonitis perforativa? Bronchitis. Anatomisch: Pneumonia croupos. lob. inf. sin. et incip. dextr. Schwellg. der aggregierten Follikel und Rötung. Schwellg. d. mesenterialen Lymphdrüsen (bis 5 ccm groß). Intensive Rötung des ganzen Dünndarms und Ekchymosen weniger des Dickdarms. Akuter Milztumor (16:8:4). Dünndarminhalt graugelblich, schleimig-zäh, Dickdarminhalt gelblich, dickbreiig. Keine Ulcera! | | Endo farblos | sogleich | • |
| 16 | 15. I. 16 Blutgalle | Typhus | + | blau | 1) sogleich<br>2) IV. 1916 | •<br>• |
| 17 | etwa 30. I. 16 Blutgalle | Typhus | + | blau | 1) sogleich<br>2) IV. 1916 | •<br>• |
| 18 | 20. II. 16 (Darm u. Milz) Leichenorgane | Pneumonie u. Fleckfieberverdacht. Anatomisch: Ulcera typhosa ilei. Blutungen in die Pleuren, Milzkapsel, Nierenbecken u. Nebennieren. Große Infarkte u. Hypostase in beid. Lungen, Milz aufs Doppelte vergrößert. Unteres Ileum mit großen Geschwüren bedeckt, besonders an der Bauhinschen Klappe; gallig imbibierte Nekrosen! | + | blau | sogleich | • |
| 19 | 23. II. 16 Leichenorgane Milz und Mesenterialdrüsen | Typhus und Fleckfieberverdacht. Anatomisch: Ulcera typh. ilei et dysent. S Roman. Stauung in (Nieren und Nebenn.) Leber u. Lungen; starke Bronchitis; Leber derb u. brüchig; Milz aufs Doppelte vergrößert; Dünndarm voller Geschwüre, den Plaques u. Follikeln entsprechend; z.T. anämisch und gereinigt; z. T. frisch geschwellt ohne hyperämische Zone. Außerordentliche Schwellung der mesenterialen Lymphdrüsen mit großen Nekrosen. Im S. Rom. einige Epithelnekrosen. | + | blau | | • |

(Fortsetzung)

| Agglutination mit spezifischen Sera (Ruhrsera sind monovalente Kaninchensera) | | | | | Bakteriologische Diagnose des Stammes | Bakteriolog. Diagnose des Falles |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Flexner (1:3000) | Y (1:6000) | Typhus (1:8000) | Paratyphus B (1:2000) | Krankenserum | | |
| 100 +++ | ● | 100 +++ | ● | ● | ruhrparagglutinable Typhusbazillen | erst Ruhr- dann Typhus, wahrscheinl. noch Ruhrbazillenträger |
| 100 200 | ● | 500 ++ 2000 + | 100 ++ | ● | desgleichen | |
| 1000 ++ 2000 + | ● | 2000+++ | ● | ● | „ | |
| 100 +++ | ● | 100 +++ | ● | ● | „ | desgleichen |
| 500 +++, 2000± 100 — | ● ● | 2000+++ b. z. Titergr. | ● ● | ● ● | „ | „ |
| 500 +++, 2000± 100 — | ● ● | 2000+++ b. z. Titergr. | ● ● | ● ● | „ | „ |
| 100 +++ | ● | 100 +++ | ● | ● | „ | „ |
| 100 +++ | ● | 100 +++ | ● | ● | „ | „ |

Tabel

| Nummer, Datum, Material des Falles | | Klinische Diagnose | Krank seit wann? | Beweglichkeit | Wachstum auf Drigalskiagar | Agglutin (dieselb | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | wann geprüft | Shiga |
| 1 | 16. XI. 15 Stuhl | Dysenterie | | | rot | sogleich | ● |
| 2 | 18. XI. 15 Stuhl | ,, | 13. X. 15 | | rot | ,, | – |
| 3 | 17. XI. 15 Stuhl | ,, | 25. X. 15 | | rot | ,, | – |
| 4 | 18. XI. 15 Stuhl | ,, | | | rot | ,, | – |
| 5 | 21. XI. 15 Stuhl | ,, | | | rot | ,, | – |
| 6 | 22. XI. 15 Blutprobe (Galleröhrchen) | Typhus Widal: (1:100+ 1:200) — | Anfang November | + | 1. Spaltform rot<br>2. Spaltfrm. blau | 1) sogleich<br>2) 22. XII. 15<br>1) sogleich<br>2) 22. XII. 15 | 100+ –<br>100 –<br>–<br>– |
| 7 | 3. XII. 15 Stuhl | Dysenterie | 4. X. 15 | ± | rot | 1) sogleich<br>2) 26. XII. 15 | –<br>– |
| 8 | 3. XII. 15 Stuhl | ,, | 22. X. 15 | ? | rot | 1) sogleich<br>2) 26. XII. 15 | –<br>– |
| 9 | 3. XII. 15 Stuhl | ,, | 16. XI. 15 | ? | rot | 1) sogleich<br>2) 26. XII. 15 | 100 ±<br>– |
| 10a | 3. XII. 15 Stuhl | ,, | 7. XI. 15 | + | rot | 1) sogleich<br>2) 26. XII. 15 | –<br>– |
| b | 7. XII. 15 Stuhl | | | + | rot | sogleich | – |
| 11 | 3. XII. 15 Stuhl | ,, | 21. X. 15 | ? | rot | 1) sogleich<br>2) 26. XII. 15 | –<br>– |
| 12 | 5. XII. 15 Stuhl | ,, | 17. XI. 15 | ? | rot | 1) sogleich<br>2) 26. XII. 15 | –<br>– |
| 13 | 5. XII. 15 Stuhl | ,, | Bazillenträg. Dys. — Y | + | rot | 1) sogleich<br>2) 26. XII. 15 | –<br>– |
| 14 | 7. XII. 15 Stuhl | ,, | | | rot | sogleich | – |
| 15 | 10. XII. 15 Stuhl | ,, | | | rot | ,, | – |
| 16 | 18. XII. 15 Stuhl | Typhus | ● | ? | rot | ,, | ● |
| 17 | 18. XII. 15 Stuhl | ,, | ● | + | rot | ,, | ● |
| 18 | 25. XII. 15 Stuhl | Dysenterie | ● | + | rot | ,, | – |



2.

| tion mit spezifischen Sera Sera wie in Tabelle I) | | | | Bakteriolog. Diagnose des Stammes | Bakteriologische Diagnose des Falles |
|---|---|---|---|---|---|
| Flexner | Y | Typhus | Krank.-ser. (stets 1 : 100 verdnnt.) | | |
| 500 + + +<br>1000 + | ● | ● | + + + | stark ruhrparagglut. Colibazillen | wahrscheinlich Ruhrbazillenträger bzw. chronisch Ruhrkranker |
| (100 + + n. 24 Std.) | — | ● | + + + | desgleichen (schwächer) | desgleichen |
| 100 + + + | (100 + n. 24 Std.) | ● | + + + | desgleichen | „ |
| 100 + + | (100 + n. 8 Std.) | ● | + | desgleichen (schwächer) | „ |
| 100 + + + | — | ● | + + + | desgleichen | „ |
| 100 + + +<br>100 + + +<br>100 + + +<br>100 + + | 100 + + +<br>100 + +<br>—<br>— | ●<br>100 + + +<br>●<br>100 ± | ● | ruhrparaggl. Coli mutabile | „ |
| 100 + +<br>desgl. | 100 + +<br>desgl. | ●<br>100 + + | ●<br>+ | typhus- u. ruhrparaggl. Colibazillen | wahrscheinlich Ruhr- und Typhusbazillenträger |
| 100 +<br>100 + + | 100 +<br>100 + + | ●<br>100 + + | ●<br>+ | desgleichen | „ |
| 100 + + +<br>desgl. | 100 + + +<br>desgl. | ●<br>100 + + | ●<br>+ + | „ | „ |
| 100 + +<br>desgl.<br>100 + + | 100 +<br>100 + +<br>100 + | ●<br>100 + +<br>● | ●<br>+<br>● | „ | „ |
| 100 + +<br>desgl. | —<br>— | ●<br>100 + | ●<br>+ | „ (schwächer) | „ |
| 100 +<br>desgl. | 100 +<br>desgl. | ●<br>100 + | ●<br>± | desgleichen (schwach) | vielleicht noch Ruhrbazillenträger |
| 100 + +<br>100 + + + | 100 + +<br>100 + | ●<br>100 + + | + +<br>+ + | stark ruhrparaggl. Colibazillen | sicherlich noch Bazillenträger! Typhusbazillen? |
| 100 + + + | 100 + + + | ● | ● | desgleichen | Ruhrbazillenausscheider(?) |
| 100 + + | 100 + + | ● | ● | desgleichen (schwächer) | wahrscheinlich noch Ruhrbazillen vorhanden |
| 100 + + +<br>1000 + | ● | — | ● | stark ruhrparaggl. Colibazillen | Ruhrbazillenausscheider(?) erst Ruhr, dann Typhus |
| 100 + + +<br>1000 + | ● | — | ● | desgleichen | desgleichen |
| 100 + + + | 100 + + + | 100 + + | ● | „ | Ruhrbazillen noch vorhanden(?) |



Tabelle 2

| Nummer, Datum, Material des Falles | | Klinische Diagnose | Krank seit wann? | Beweglichkeit | Wachstum auf Drigalskiagar | wann geprüft? | Agglutina- (dieselben) Shiga |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 19 | 25. XII. 15 Stuhl | Typhus | ● | + | rot | sogleich | — |
| 20 | 27. XII. 15 Stuhl | „ | ● | + | rot | „ | ● |
| 21 | 27. XII. 15 Stuhl | „ | ● | + | rot | „ | ● |
| 22 | 2. I. 16 Stuhl | Dysenterie | ● | + | rot | „ | ● |
| 23 | 5. I. 16 Stuhl | „ | ● | + | rot | „ | ● |
| 24 | 5. I. 16 Stuhl | „ | ● | + | rot | „ | ● |
| 25 | 5. I. 16 Stuhl | „ | ● | ? | rot | „ | ● |
| 26 | 6. I. 16 Stuhl | „ | ● | ? | rot | „ | ● |
| 27 | etwa 8. I. 16 Stuhl | „ | ● | ? | rot | 1) Anf. Febr. 16<br>2) „ April „<br>3) „ Mai 17 | ● |
| 28 | 11. I. 16 Stuhl | Typhus | ● | + | rot | sogleich | ● |
| 29 | etwa 16. I. 16 Stuhl | Dysenterie | ● | — | rot | 1) sogleich<br>2) April 16<br>3) Mai 17 | <br>●<br> |
| 30 | 19. I. 16 Stuhl | Typhus | ● | ● | rot | sogleich | ● |

Fortsetzung).

| tion mit spezifischen Sera<br>Sera wie in Tabelle I) | | | | Bakteriolog. Diagnose des Stammes | Bakteriologische Diagnose des Falles |
|---|---|---|---|---|---|
| Flexner | Y | Typhus | Krank.-ser.(stets 1 : 100 verdnnt.) | | |
| 100 — — | 100 — + + | 100 + | ● | ruhrparaggl. Coli | Ruhrbazillen noch vorhanden(?) |
| 100 — — | + | 100 + | ● | desgleichen (schwächer) | desgleichen (wahrscheinlich) |
| 100 — — | + | 100 + + | ● | desgleichen | desgleichen |
| 1000 + — | 1000 + + | 100 + + | ● | stark ruhr-, schwächer typhusagglutinable Colibazillen | Ruhrbazillen sicherlich noch vorhanden! Typhus-bazillen? |
| 1000 — — | 1000 + + | 100 + + | ● | desgleichen | desgleichen |
| 1000 + | 1000 + + + | 100 + | ● | " | " |
| 100 — — —<br>1000 ± | 100 + + +<br>1000 ± | 100 + | ● | " | " |
| 200 — +<br>1000 + | 100 + + +<br>500 ± | —<br>● | ● | " | " |
| 2000 + +<br>500 +<br>(n. 24 Std.<br>1000 +)<br>2000 ± | 2000 +<br>500 +<br>(n. 24 Std.<br>2000 +)<br>100+, 200± | 100 + + +<br>●<br><br><br>● | ● | stark ruhr- und typhusparagglutinable Colibazillen | Ruhr- und Typhus-bazillenausscheider (?) |
| 100 + + +<br>500 + | 100 + | 100 + + | ● | wie 22 | wie 22 |
| 100 —<br>(n. 24 Std.<br>1000 —) | 2000 + + + | 100 + + + | ● | wie 27 | wie 27 |
| | 500 +<br>(n. 24 Std.<br>1000 +) | ● | | | |
| 100 — (auch<br>n. 24 Std.) | 100 — (auch<br>n. 24 Std.) | ● | | | |
| 100 + + — | 100 + + + | 100 + + | ● | wie 22 | wie 22 |





Tabelle 3.

| Nummer | Datum Material | Klinische Diagnose | Beweglichkeit | Wachstum auf Drigalski-agar | Wann untersucht? | Agglutination durch spezifische Sera: Flexnerruhr | Typhus | Paraty. B (1 : 2000) | Paraty. A (Titer 1 : 10000) | Bakteriologische Diagnose des Stammes | Bakteriologische Diagnose des Falles |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5. XII. 15 Blutgalle | Typhus | ● | Reinkultur: rötlich violett auf blauem Grunde | sogleich | ● | ● | 2000+++ 5000 – | 10000+ | Paratyphus B oder A? | Paratyphus A und B Mischinfektion? |
| 2 | 22 XII. 15 Blutgalle | „ | + | blau | 29. XII. 15 | 1000++ 2000 – | 100± | 100± | 1000++ 2000 – | ruhrparaggl. Paratyphus A-Bacillus, wächst auf Lakmusmolke u. Neutralrot-Zuckeragar wie Paratyphus A. | Paratyphus A, vielleicht noch Ruhrbazillenausscheider? |
| 3 | 27. XII. 15 Stuhl | „ | + | „ | sogleich | 100+ | 100+ | 100++ | 2000+ | Paratyphus A | Paratyphus A Mischinfektion |
| 4 | 1. I. 16 Blutgalle | „ | + | „ | 1) sogleich 2) April 1916 | 100+ ● | 100± ● | 2000+ 2000+ | 10000+ 100+ | Durch A-Serum paragglutinierter Paratyphus B. Chemische Proben wie Paratyphus B | Paratyphus B Mischinfektion. |

lange hochparagglutinable Coli- (oder andere) Stämme vorhanden sind, auch die entsprechenden Krankheitserreger irgendwo noch im Kranken oder Genesenden zu vermuten (Gallenblase, Geschwüre!). Die Züchtung eines paraagglutinablen Stammes gibt, innerhalb gewisser Grenzen, einen Anhaltspunkt dafür, ob der Betreffende noch pathogene Keime zu beherbergen verdächtig ist.

Zur Feststellung von Bazillenträgern (Dauerausscheidern) muß man natürlich verlangen, daß sich der echte pathogene Stamm züchten läßt.

Ich lasse nunmehr meine Befunde in Tabellenform folgen (s. Tab. 1 bis 3).

In Tab. 1 sind 19 Typhusstämme aufgeführt, die mit Flexnerkaninchenserum stark agglutinierten, und zwar soweit der Endtiter festgestellt wurde, bis nahe an die Titergrenze; häufig war dabei die Agglutinabilität für Typhusserum geringer als für Ruhrserum. Soweit Shiga- und Y-Serum herangezogen wurde, fiel die Agglutination damit negativ aus, dagegen häufig positiv mit Paratyphus B-Serum. 11 dieser Stämme wurden aus Stuhl, 5 aus Blut (mittels Galle), 3 aus Leichenteilen gezüchtet. Soweit die Stämme mehrfach untersucht wurden, fand sich fünfmal nach etwa 1 bis $2^1/_2$ Monaten die Agglutination erhalten, einmal (7b) war sie innerhalb von 6 Tagen von 100 +++ auf 100 ± zurückgegangen, zweimal (16 und 17) innerhalb von 3 Monaten von 2000 ± auf 100 –; die Agglutinabilität für Typhusserum, die in beiden Fällen von Anfang an stärker ausgesprochen war als die für Ruhrserum, war dabei völlig erhalten.

Daneben wurde einmal aus Fäzes ein Colistamm gezüchtet, der gleichzeitig mit Shiga-, Flexner-, Y- und Typhusserum agglutinierte, ferner zweimal aus Blut Flexner- und typhusagglutinable Colistämme.

In den 30 in Tab. 2 zusammengestellten Fällen wurden 29mal aus Stuhl, einmal aus Blut paragglutinierende Colibazillen gezüchtet. Mit Shigaserum agglutinierte nur der aus Blut gezüchtete Stamm, dagegen agglutinierten fast alle daraufhin geprüften Stämme (im Gegensatz zu den Typhusstämmen in Tab. 1) nicht nur mit Flexner-, sondern ebensogut mit Y-Serum, in der Mehrzahl der Fälle auch mit Typhusserum sowie mit dem (eigenen) Krankenserum.

Der aus Blut gezüchtete Stamm (6) erwies sich als Coli mutabile, dessen beide Spaltformen sich auch agglutinatorisch unterschieden. Es sei auf die schon erwähnten eingehenden Beobachtungen Baerthleins über Flexner-paragglutinable Coli-mutabile-Stämme hingewiesen.

Die Frage, wie lange die Agglutination bei diesen Stämmen sich hielt, wurde nur an 2 Stämmen (27 und 29) geprüft, die dem Institut „Robert Koch" übersandt wurden. Herrn Dr. Schiemann bin ich für die mehr-





fache Nachprüfung der Kulturen zu Dank verpflichtet. Die Kulturen wurden zunächst mehrfach auf Schrägagar weiter gezüchtet und blieben dann im Agarstich 1 Jahr lang stehen. Nach dieser langen Zeit wieder abgestochen, hatte die Colikultur 27 ihre Agglutinabilität für Flexnerserum vollständig behalten, für Y-Serum fast ganz verloren; die andere Colikultur agglutinierte bei der ersten Nachprüfung (nach 3 Monaten) nur noch ganz schwach mit Flexner-, dagegen gut mit Y-Serum, 1 Jahr später mit keinem der beiden Sera. Diese Beobachtungen sind ein gutes Beispiel für die verschiedene Dauer der Paragglutinabilität; sie zeigen aber auch, daß eine Paragglutination mindestens 16 Monate lang erhalten bleiben kann. Giesczczykiewicz fand bei Untersuchung zahlreicher paragglutinierender Colistämme die Agglutinabilität für Flexnerserum nach einem Jahr meist erhalten oder wenig verringert, während die gleichzeitig bei denselben Stämmen vorhandene Agglutinabilität für Typhusserum in der Mehrzahl der Fälle erheblich (auf ein Drittel bis ein Achtel) sank, in einigen Fällen vollständig verloren ging.

Die Tab. 3 umfaßt 4 Fälle, in denen (dreimal aus Blut, einmal aus Stuhl) Bazillen gezüchtet wurden, die durch Paratyphus A-Serum hoch agglutiniert wurden. Einer dieser Stämme (Nr. 2) ist als ein mit Flexnerserum paragglutinierender Paratyphus A anzusehen, desgleichen wohl Nr. 3 als ein Paratyphus A, der schwächere Agglutination mit Typhus, Paratyphus- und Flexnerserum zeigt. Nr. 4 ist ein Paratyphus B-Stamm, der mit Paratyphus A-Serum bis zur Titergrenze agglutiniert, diese Paragglutination aber bald vollständig verliert. Bei Nr. 1 muß es, da hier die chemischen Proben sowie eine spätere Nachprüfung der Agglutination fehlen, unentschieden bleiben, ob Paratyphus A oder B vorliegt.

## Ergebnisse.

Unter den im Felde vorliegenden Verhältnissen werden bei Darmerkrankungen häufig Bakterien gezüchtet, die eine als Paragglutination aufzufassende Beeinflussung durch fremde Immunsera (am häufigsten mit Ruhrsera) zeigen; diese Agglutinabilität geht oft bald verloren, in manchen Fällen hält sie sich lange. Der Befund solcher paragglutinabler Stämme läßt mit Wahrscheinlichkeit auf eine vorhergegangene oder eine noch bestehende chronische Infektion mit den betreffenden Erregern (meist also mit Ruhr) schließen.

In 19 Fällen wurden teils aus Stuhl, teils aus Blut und Leichenteilen Typhusbazillen gezüchtet, die Paragglutination mit Flexnerruhrserum zeigten.



Dreißigmal wurden aus Stuhlproben, dreimal aus Blut Colibazillen gezüchtet, die mit Flexner-, meist auch mit Y-, zum Teil auch mit Shiga- und Typhusserum paragglutinierten.

Ein Paratyphus A-Stamm wurde gleichzeitig durch Flexner-, ein anderer durch Paratyphus B-Serum, ein Paratyphus B-Stamm umgekehrt durch Paratyphus A-Serum agglutiniert.

Herrn Geheimrat Neufeld sage ich für die freundliche Anregung zur Veröffentlichung dieser Befunde und für die Hilfe bei der Darstellung auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank.

---

## Nachtrag bei der Korrektur.

Bei gehäuften Typhuserkrankungen unter deutschen Truppen und eingeborener Bevölkerung in Frankreich, Herbst 1917, kamen neuerlich zur Beobachtung: paragglutinierende Colistämme = 24, Typhusstämme = 1, Paratyphus B = 10, Paratyphus A = 1.

Die Colistämme wurden nur von deutschen Truppen gewonnen (aus Stühlen) und verteilten sich agglutinatorisch nach folgenden Typen:

| Agglutination mit | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ty- | Paraty B- | · | Flexner- | Serum | 1 Stamm |
| | · | B- | · | · | „ | 2 Stämme |
| | · | B- | A- | · | „ | 4 „ |
| | · | B- | · | Fl- | „ | 4 „ |
| | · | B- | A- | Fl- | „ | 7 „ |
| | · | · | A- | · | „ | 1 Stamm |
| | · | · | A- | Fl- | „ | 1 „ |
| | · | · | · | Fl- | „ | 4 Stämme |

Die Paratyphus- und Typhusstämme wurden zu einem Drittel von französischen Einwohnern, zu zwei Dritteln von deutschen Truppen gewonnen und verhielten sich agglutinatorisch nach folgenden Typen:

| Agglutination mit | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Ty- | Paraty B- | · | Serum | 2 |
| | Ty- | B- | A- | „ | 6 (darunter ein Typhus- u. ein Parat. A-Stamm) |
| | · | B- | A- | „ | 3 |
| | · | · | A- | „ | 1 |

Von diesen Stämmen wurden zehn als Paratyphus B-Stämme bestimmt; je einer als Typhus und Paratyphus A.

Vier nach dem Typus Ty, B-, A- agglutinierende Stämme wurden von Franzosen gewonnen; darunter der Typhus- und der Paratyphus A-Stamm.

Gegenüber den Befunden in Rußland vom Herbst 1915 ist der verhältnismäßig geringe Anteil der Flexnerparagglutination und das fast völlige Fehlen der Typhus-Paragglutination bei den Colistämmen auffallend; an Stelle der letzteren tritt Paratyphus-Paragglutination.

Bei den Typhusstämmen fehlt der Typus: Typhus-Flexner; dafür tritt auf der Typus: Typhus-Paratyphus.

Dies veränderte Bild erklärt sich aus den epidemiologischen Bedingungen, die sich in Frankreich darboten. Zunächst spielte Ruhr nicht entfernt die gleiche Rolle wie damals in Rußland. Sodann wurden aus den Typhuskranken der, häufig geimpften und lange durchseuchten, deutschen Truppen fast nur Paratyphus-, aus den ungeimpften Franzosen fast ausschließlich Typhusbazillen gezüchtet. Wo die Gelegenheit zum Kontakt zwischen Truppen und Einwohnern gegeben war, machten sich Mischinfektionen geltend.

Bei Umgebungsuntersuchungen fanden sich mehrfach Personen, welche stark paragglutinierende Coli doppelten oder dreifachen Typs ausschieden. Es kann vielleicht auch mit direkter Übertragung solcher paragglutinierender Bazillen gerechnet werden, wenn auch ihre Entstehung wohl ursächlich einer Mischinfektion zugeschrieben werden muß.

## Literaturverzeichnis.


Baerthlein, *Ztrbl. f. Bakt.* Bd. LXXVII. 1916. S. 272.

Gieszczykiewicz, *Ebenda.* Bd. LXXVIII. S. 104.

Hutt, *Diese Zeitschrift.* Bd. LXXIV. 1913. S. 108.

Kuhn, *Med. Klin.* 1916. Nr. 30.

Kuhn, Gildemeister und Woithe, *Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* Bd. XXXI. S. 394.

Manteufel, *Diese Zeitschrift.* Bd. LXXIX. 1915. S. 319.

Schiemann, *Ebenda.* Bd. LXXXII. S. 405.

Seligmann, *Ztrbl. f. Bakt.* Bd. LXXIX. S. 71.




[Aus der medizinischen Klinik der Universität Breslau.]
(Direktor: Geheimrat **Minkowski**.)

# Experimentelle und klinische Untersuchungen über die Serumfestigkeit der Typhusbazillen.[1]

Von

Dr. **Felix Rosenthal**,
Assistenzarzt der medizinischen Universitätsklinik Breslau.

Das Problem der Pathogenese des Abdominaltyphus hängt mit der vielumstrittenen Frage über die Bedeutung der Bakteriolyse für den Heilmechanismus aufs engste zusammen. Während Pfeiffer und seine Schule den bakteriziden Immunstoffen eine ausschlaggebende Rolle für die Heilung der Infektion zuschreiben, vertritt Metschnikoff bekanntlich den Standpunkt, daß die Vernichtung der Bakterien im Tierkörper hauptsächlich eine Funktion der Leukozyten sei. Die Serumbakterizidie sei eine Gerinnungserscheinung und nur ein Phänomen des Laboratoriumsexperiments, nicht aber ein in vivo sich abspielender, die Heilung des erkrankten Organismus ursächlich bedingender Vorgang. — Es läßt sich nicht leugnen, daß mit der Pfeifferschen Humoraltheorie der bakteriolytischen Immunität beim Abdominaltyphus manche klinische Beobachtungen am erkrankten Menschen in gewissem Widerspruch stehen. So ist schon der Eintritt einer Typhusinfektion beim Menschen vom Standpunkt der bakteriolytischen Immunität schwer verständlich. Wenn wir uns auch vorstellen können, daß die durch den Lymphapparat des Verdauungstraktus eindringenden Bazillen vielleicht nicht im Lymphstrom die für die Abtötung notwendige bakteriolytische Konzentration vorfinden, so bleibt doch die weitere Frage offen, wie sich die Existenzfähigkeit der aus den Mesenterialdrüsen mit dem Lymphstrom in die

[1] Der Medizinischen Fakultät der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau als Habilitationsschrift eingereicht.



Blutbahn eindringenden Typhusbazillen inmitten der im Blut reichlich vorhandenen bakteriziden Substanzen erklärt. Warum versagt die Bakterizidie der Körpersäfte gegenüber den vom Darm aus in den Organismus eindringenden Bazillen, und warum bleibt die Infektion aus und tritt die normale humorale Bakterizidie voll in die Erscheinung, wenn man lebende Typhusbazillen unter die menschliche Haut bringt? Denn Besredka (1), Castellani (2), Pescarolo und Quadrone (3) haben in zahlreichen Fällen lebende, nicht abgeschwächte Typhusbazillen Gesunden subkutan injiziert, ohne daß jemals eine Infektion des Organismus eintrat. Auch der zeitliche Ablauf und die Prognose des typhösen Krankheitsprozesses braucht in keinen unmittelbaren Beziehungen zu der Schnelligkeit und Intensität der Bakteriolysinbildung zu stehen, ja, trotz hohen bakteriziden Titers des Blutes kann die Infektion bei massiger Bakteriämie tödlich enden (Stern). Wenn auch zweifelsohne in solchen Fällen der Tod durch Giftwirkung bedingt ist, so bleibt doch die Schwere der Blutinfektion angesichts des Vorhandenseins wirksamer Bakterizidine ungeklärt. Ähnliche Unstimmigkeiten zwischen Klinik und Immunitätslehre ergeben sich mit dem Abklingen des Krankheitsprozesses, wenn nach dem Eintritt der Apyrese der Organismus in das Stadium der Rekonvaleszenz hinübertritt. Die Tatsache drängt sich hier in den Vordergrund, daß der Krankheitsprozeß abläuft, bevor die Erreger den Körper verlassen haben, und daß bei einer Anzahl von Typhusrekonvaleszenten die Ausscheidung der Bazillen durch Stuhl und Urin erst nach Wochen und Monaten endet, und wieder ein Teil dieser Individuen zu Bazillenträgern wird, die auch nach Jahren noch die Typhusbazillen nach außen entleeren. Der Einwand, daß die mit dem Stuhl ausgeschiedenen Bazillen der Gallenblase entstammen, wo sie in einem ihnen besonders günstigen Nährmedium der Säftebakterizidie entzogen sind und nur lokalen, zellulären Einwirkungen unterliegen, ist nicht erschöpfend. Die metastatischen typhösen Ausscheidungsherde der Niere, die eine langandauernde Typhusbakteriurie unterhalten können, sind zweifellos von Lymph- und Blutstrom umspült, und doch entgehen die in ihnen wuchernden Bazillen der Vernichtung durch die in der Rekonvaleszenz beträchtlich gesteigerte Säftebakterizidie. Das gleiche gilt für die metastatischen, zu Entzündungsprozessen und lokalen Abszedierungen führenden Bazillenherde im Periost und Knochenmark, in der Schilddrüse, in den Hoden und Adnexen, ferner für die posttyphösen Muskel-, Leber- und Milzabszesse, unter denen die letzteren ein besonderes theoretisches Interesse beanspruchen, weil wir ja in der Milz eine Hauptbildungsstätte der Immunsubstanzen erblicken (Pfeiffer und Marx, Wassermann u. a.). Diese Unstimmigkeit zwischen der hohen Bakterizidie des Blutes in der

Rekonvaleszenzperiode und der Persistenz der Typhusbazillen in den Organen löst sich allerdings vielleicht mit den Befunden von Bail und Pettersson (4), Hoke (5) und Hata (6), welche nachweisen konnten, daß die Anwesenheit von Organzellen den Prozeß der Bakteriolyse durch Absorption des bakteriolytischen Ambozeptors oder des Komplements bzw. beider Substanzen verhindert. Es ist also mit der Möglichkeit zu rechnen, daß trotz hoher Bakterizidie des Blutes im Bereich der Organparenchyme die Wirkung der bakteriolytischen Immunsubstanzen ausgeschaltet bleibt.

Weitere Schwierigkeiten für das Verständnis der Pathogenese des Abdominaltyphus vom Standpunkt der bakteriolytischen Immunität ergeben sich, wenn wir unter den gleichen Gesichtspunkten einen Einblick in die Genese des Typhusrezidivs zu gewinnen versuchen. Die übliche primitive Erklärung, daß die im Körper zurückgebliebenen Bazillen wieder ins Blut gelangen und dadurch ein Wiederaufflackern des Prozesses veranlassen. ist überhaupt keine Erklärung; denn der Kernpunkt der Fragestellung gipfelt gerade darin, warum die Typhusbazillen von neuem in den Kreislauf eindringen und eine Wiederholung der Krankheit mit ihren verschiedenen Phasen bewirken. Es ergibt sich die paradoxe Tatsache, daß die erworbene Immunität des Organismus wohl ausreicht, um die primäre Infektion niederzukämpfen, aber nach einem kurzen Intervall gegenüber den der Vernichtung entgangenen Erregern der primären Infektion bereits wieder versagt. Es mag in manchen Fällen vielleicht möglich sein, die Entstehung der Frührezidive auf einen raschen Rückgang der spezifischen Immunkörperbildung zurückzuführen. Im allgemeinen aber erreicht die Bildung der spezifischen Immunkörper — im Pfeifferschen Versuch gemessen [Töpfer und Jaffé (7)] — erst in der Rekonvaleszenz ihren Höhepunkt, und der Eintritt des Rezidivs erfolgt zu einer Zeit, wo die bakterizide Immunität noch voll zur Geltung kommen müßte. So erfolgte nach den Beobachtungen von Stern und Korte (8) bei einem Typhusrekonvaleszenten das Rezidiv wenige Tage nach der Feststellung eines bakteriziden Serumwertes von 1:4000000, und ebenso beschreibt Jürgens (9) einen Fall, in dem bei hohem bakteriziden und opsonischen Titer sich ein Typhusrezidiv entwickelte.

Eine verbindende Brücke zwischen den widerspruchsvollen Ergebnissen der klinischen Beobachtung und der Immunitätsforschung dürften klinisch-bakteriologische und experimentelle Untersuchungen über das Wesen der Virulenz und Anpassung der Bakterien bilden, Untersuchungen, die ihre Zusammenfassung in der Eisenbergschen Ektoplasmatheorie (10, 11) erfahren haben. Sie weisen darauf hin, daß ebenso wie andere pathogene Mikroorganismen auch der Typhusbacillus nicht schutzlos den Abwehrkräften des Organismus preisgegeben ist, sondern unter ihrer Einwirkung

einen Akt der Selbstimmunisierung in sich zu vollziehen imstande ist, durch den er sich den vernichtenden Funktionen des Körpers mehr oder minder zu entziehen vermag. Die Gesamtheit dieser biologischen Phänomene, die sich ganz allgemein mit dem Begriff der Antikörperfestigkeit der Typhusbazillen zusammenfassen lassen, bestehen im einzelnen in der Agglutininfestigkeit, der Bakteriotropinfestigkeit und der Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen. Die Anpassung der Typhusbazillen an die Agglutinine dürfte für den Infektionsverlauf ohne wesentliche Bedeutung sein, da die Agglutinine in keiner Beziehung zum eigentlichen Immunitätszustand des Organismus stehen. Über die Bakteriotropinfestigkeit der Typhusbazillen und ihre Bedeutung für die Pathogenese des Unterleibstyphus stehen ausgedehntere Untersuchungen noch aus. Es liegen nur kurze Angaben von Hektoen und Rüdiger (12) vor, wonach frisch aus dem Typhuskranken isolierte Stämme eine beträchtliche Phagocytoseresistenz besitzen.

Besondere Bedeutung für die Klinik des Typhus abdominalis kommt naturgemäß den Anpassungserscheinungen der Bazillen an die bakteriziden Substanzen des Organismus zu. Durch die Festigkeit gegen die bakteriolytischen Antikörper wird das therapeutische Wirkungsgebiet bakterizider Immunsera begrenzt, die gegenüber serumfesten Stämmen je nach dem Grade der Serumresistenz mehr oder minder versagen müssen, und sie bildet vielleicht auch die Ursache für die mangelhaften Erfolge einer Serumtherapie des Abdominaltyphus, die dem Organismus eine bakterizide Immunität zu verleihen sucht. Ihre theoretische Bedeutung liegt darin, daß sich unsere Anschauungen über den Heilmechanismus des Typhus abdominalis nicht einseitig an den Abwehrkräften des erkrankten Makroorganismus, sondern zugleich auch an den aktiven Immunisierungsvorgängen in den Bakterien selbst zu orientieren haben.

Zeigen die Untersuchungen von Stern (13), Eppenstein und Korte (14), daß die Serumfestigkeit frisch aus dem Körper gezüchteter Typhusbazillen häufig nur einen vorübergehenden Anpassungszustand an die bakteriziden Funktionen des menschlichen Serums darstellt und nach Fortzüchtung auf Agar sowie auch nach mehrtägigem Aufenthalt in dem bei Zimmertemperatur aufbewahrten Oxalatblut wieder zu schwinden vermag, so beschrieben Friedberger und Moreschi (15), Besserer und Jaffé (16), Schlemmer (17), Neufeld und Hüne (18), Neufeld und Lindemann (19), Laubenheimer (20), Töpfer und Jaffé (21) Typhusstämme, die ihre Serumfestigkeit auch nach zahlreichen Kulturpassagen bewahrten, deren Serumfestigkeit also einen Dauerzustand repräsentierte. So wies der von Friedberger und Moreschi beschriebene Typhusstamm Sprung auch in der Kultur nach beliebigen Passagen eine hohe, teilweise vollständige Unempfindlichkeit gegen bakteriolytische Immunsera auf, die gegenüber anderen typischen Stämmen einen beträchtlichen



bakteriolytischen Titer im Meerschweinchenversuch besaßen. Über ähnliche Befunde berichten Besserer und Jaffé, die unter fünf aus dem Stuhl von Bazillenträgern isolierten Typhusstämmen drei antrafen, welche gegen die Serumbakterizidie dauernd unempfindlich waren. Daß es sich bei den serumfesten Typhusstämmen, die auch in der Kultur ihre Serumfestigkeit als dauernde Eigentümlichkeit bewahren, nicht um allzu seltene biologische Ausnahmezustände handelt, zeigen die ausgedehnten Versuchsreihen Schlemmers, der unter 59 von ihm untersuchten Stämmen verschiedener Herkunft neben sehr empfindlichen Stämmen (2) auch mehrere fast unempfindliche (5) fand. Zwischen diesen Extremen gruppierten sich Stämme, deren Festigkeitsgrad alle Übergangsstufen von serumfesten zu serumempfindlichen Stämmen erkennen ließen. Die Befunde Schlemmers sind von Neufeld und Lindemann bestätigt und erweitert worden.

So wird aus mannigfachen Erwägungen heraus eine experimentelle Bearbeitung der Serumfestigkeit des Typhusbacillus, der Bedingungen ihres Entstehens und Vergehens eine wichtige klinische Forderung. Die weitgehenden Differenzen in den Angaben der erwähnten Autoren, die alle Grade der Serumfestigkeit beobachten und die Serumempfindlichkeit der Typhusstämme bald als Dauerzustand, bald als vorübergehende Anpassungserscheinung an den Tierkörper beschreiben, weisen auf Lücken hin, deren Ausfüllung des Experiments harrt.

Solche Untersuchungen liegen bisher von Trommsdorff (22), Cohn (23), Bail und Rubritius (24), Tsuda (25), Bezzola (26) und in jüngster Zeit von Braun und Feiler (27, 28) vor, unter denen die letzteren neben Cohn die bisher erschöpfendste Analyse der Anpassungserscheinungen geliefert haben. In dem Hauptpunkt stimmen alle überein, daß auch experimentell eine Anpassung der Bazillen an die Bakteriolysine erzielt werden kann. Nur über die fundamentalen Bedingungen, unter denen sich der Eintritt der Serumfestigkeit vollzieht, besteht noch keine Einigkeit. Während nach Trommsdorff, Cohn, Braun und Feiler die Entstehung der Serumfestigkeit an den aktiven Zustand des Serums gebunden ist, und nach Cohn, Braun und Feiler die Serumfestigkeit sich nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von bakteriolytischem Ambozeptor und Komplement entwickelt, fand Tsuda, daß bereits eine einmalige Passage von Typhusbazillen im inaktiven, eine halbe Stunde auf 58° erhitztem normalen Meerschweinchenserum eine starke Resistenz der Bakterien gegen bakterizide Funktionen, ihre „Animalisierung“ hervorrufe; ebenso fand Tsuda, daß eine Serumfestigkeit sich durch einmalige Passage in einem Serum entwickelt, das vorher mit toten Bazillen behandelt wurde. Er kommt durch diese Ergebnisse zu der Anschauung, daß zwar die vermehrte Resistenz der Bazillen durch eine besondere Eigenschaft des Serums bedingt sei, daß aber die beiden bakteri-



ziden Komponenten, die Immunkörper und das Komplement des betreffenden Serums an dem Zustandekommen der Serumresistenz der Bazillen unbeteiligt seien. In ähnlicher Richtung bewegen sich die Anschauungen von Bezzola, der die Bail-Rubritiussche Animalisierung der Typhusbazillen im Meerschweinchenperitoneum auf Veränderungen physikalischer Natur zurückführt, indem die einzelnen Bazillen sich gewissermaßen mit der schleimigen Exsudatflüssigkeit imprägnieren und umhüllen und dadurch vor der Einwirkung des Ambozeptors besser geschützt bleiben.

In der Methode unserer eigenen Versuche, die im März 1914 begonnen wurden und infolge des Krieges mehrfach angefangen und unterbrochen werden mußten, bis sie schließlich vom März bis November 1916 zu Ende geführt werden konnten, haben wir an die Untersuchungen von Braun und Feiler angeknüpft. Es standen uns fünf typische Typhusstämme zur Verfügung, die entsprechend den wiedergegebenen Protokollen zur Verwendung gelangten. Sämtliche Stämme waren lebhaft beweglich, verhielten sich auf Drigalski- und Endonährboden, in Milchzucker- und Traubenzuckeragar typisch, wuchsen in Lackmusmolke unter geringer Säurebildung, brachten Milch nicht zur Gerinnung, bildeten kein Indol und wurden von einem hoch agglutinierenden Testserum bis oder fast bis zur Titergrenze agglutiniert. Der am häufigsten in den Versuchen benutzte Stamm 261 war aus dem Stuhl eines Typhuskranken isoliert worden, Stamm F war ein älterer Laboratoriumsstamm, über dessen Herkunft Genaues nicht mehr zu ermitteln war; Stamm Krüger, Ziegler, Kuszguska sind aus dem Blut von Typhuskranken gezüchtet worden.

Wir beschäftigen uns zunächst mit der Festigung der Typhusbazillen gegen die bakteriziden Substanzen des Kaninchenserums. Bezüglich der Technik haben wir noch folgende Einzelheiten vorauszuschicken:

Das Kaninchenserum wurde unter sterilen Kautelen aus der Ohrvene des Tieres entnommen. Zu diesem Zwecke wurde das Ohr gründlichst abgeseift, rasiert und mittels sterilen Verbandmulls sorgfältig mit Alkohol und Sublimat desinfiziert. Nach diesen Vorbereitungen wurde das Ohr mit Toluol abgerieben, und die stark hyperämische Randvene mit einem sterilen Skalpell geritzt. Es gelingt auf diese Weise leicht, auch größere Blutmengen von einem Versuchstiere zu gewinnen. Um diese immerhin Zeit beanspruchenden Manipulationen zu beschränken, haben wir im allgemeinen das für zwei Versuchstage erforderliche Blutquantum meist auf einmal entnommen, so daß in regelmäßigen Abständen von 2 Tagen immer 48 Stunden altes Kaninchenserum zur Verwendung gelangte. Das in sterilen Reagenzgläsern zur Gerinnung gebrachte Blut wurde nach einigen Stunden mit einer sterilen Nadel umstochen, das ausgepreßte klare Serum am nächsten Morgen steril abpipettiert, und der reichlich Blutkörperchen enthaltende Serumrest zentrifugiert und mit der ersten Serumportion vereinigt; das gewonnene Serum wurde in Mengen von je 1 ccm auf sterile

Röhrchen abgefüllt und aktiv bzw. inaktiv (nach $^1/_2$ stündigem Erwärmen auf 56° im Wasserbade) für die Kulturpassagen benutzt. Von einer 24stündigen Typhuskultur auf Schrägagar, deren Reinheit sichergestellt war, wurde alsdann je eine Öse Kulturmaterial auf je ein Röhrchen mit aktivem und inaktivem Kaninchenserum übertragen, und hierauf die beimpften Gläser einer 24 stündigen Bebrütung bei 37° ausgesetzt. Die Überimpfungen wurden täglich vorgenommen. In täglichen bakteriziden Reagenzglasversuchen wurde dann der Eintritt der Serumfestigkeit der Typhusbazillen zeitlich festgelegt. Die Überimpfung geschah in den ersten Passagen durch Übertragung von 0·1 ccm 24 stündiger Serumkultur auf entsprechende unbeimpfte Serumgläschen, erst nach Eintritt der Festigkeit wurde die tägliche Fortimpfung des festen Stammes mit 1 bis 2 Ösen Serumkultur vorgenommen. Die folgenden Versuche zeigen die Entwicklungsstadien der Typhusbazillen von ihrer ursprünglichen Serumempfindlichkeit bis zur absoluten Festigkeit gegen aktives normales Kaninchenserum.

Die Zählung der Platten wurde unter dem Mikroskop (Zeiss, Okular 2, Objektiv A 15 mm) vorgenommen. Es wurden je 25 Gesichtsfelder ausgezählt, deren Durchschnittswert den in den Protokollen wiedergegebenen Zahlen entspricht. Bei sehr geringem Wachstum wurde die Gesamtzahl der Kolonien in der Platte mit Hilfe der Lupe und der Zählplatte berechnet. Bei üppigem Wachstum, das eine genaue Auszählung unmöglich machte, wurde die ungefähre Zahl schätzungsweise angegeben.

## I.

## Untersuchungen über die Entwicklung der Serumfestigkeit bei Typhusbazillen in aktivem und inaktivem Kaninchenserum.

### Tabelle I (20. 6. 1916).

Ist der Typhusstamm 261 nach 2 Passagen durch aktives und inaktives Kaninchenserum unempfindlich gegen aktives Kaninchenserum?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Ausgangsstamm 261, durch 2 Bouillonpassagen geschickt.
II. Stamm 261, durch 2 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtet.
III. Stamm 261, durch 2 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtet.

Diese Stämme werden geprüft gegen

1. aktives Kaninchenserum,
2. inaktives Kaninchenserum

in folgender Weise:

Je 0·1 $^1/_{50}$ jeder Kultur, mit 0·85 prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in

1. 1 ccm aktives Kaninchennormalserum,
2. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,
3. 1 ccm Bouillon.



Kontrollen: a) 1 ccm aktives Kaninchennormalserum
b) 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum } unbeimpft.

Röhrchen 3 wird sofort zur Bestimmung der Einsaat, mit 10 ccm Agar gemischt, zur Platte ausgegossen; Röhrchen 1, 2 und Kontrollen a, b werden nach 3stündiger Bebrütung bei 37° in gleicher Weise behandelt.

Plattenauszählung am 21. 6. 1916.

Stamm I, Ausgangsstamm:

1. 0·8 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 60 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm II, Kultur in aktivem Kaninchenserum:

1. 0·6 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. 35·3 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm III, Kultur in inaktivem Kaninchenserum:

1. 0·8 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 80 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Kontrolle a und b: Steril.

Resultat: Nach 2 Passagen in aktivem Kaninchenserum ist eine Festigkeit des Stammes gegen aktives Kaninchenserum nicht erkennbar.

Tabelle II (21. 6. 1916).

Ist der Typhusstamm 261 nach 3 Passagen durch aktives und inaktives Kaninchenserum fest gegenüber aktivem Kaninchenserum?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Ausgangsstamm 261, durch 3 Bouillonpassagen geschickt.
II. Stamm 261, durch 3 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtet.
III. Stamm 261, durch 3 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtet.

Diese Stämme werden geprüft gegen

1. aktives Kaninchennormalserum,
2. inaktives Kaninchennormalserum

in folgender Weise:

Je 0·1 $^1/_{50}$ jeder Kultur, mit 0·85 prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in

1. 1 ccm aktives Kaninchennormalserum,
2. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,
3. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum.

Kontrollen a) 1 ccm aktives Kaninchennormalserum
b) 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum } unbeimpft.



Röhrchen 3 wird sofort zur Bestimmung der Einsaat, mit 10 ccm Agar vermischt, zur Platte ausgegossen; Röhrchen 1, 2 und Kontrollen a, b werden nach 3stündiger Bebrütung bei 37° in gleicher Weise behandelt.

Plattenauszählung am 22. 6. 1916.

Stamm I, Ausgangsstamm:

1. 0·4 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm II, Kultur in aktivem Kaninchenserum:

1. 20·5 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 80 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. 40·3 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm III, Kultur in inaktivem Kaninchenserum:

1. 0·6 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Kontrollen a und b: Steril.

Resultat: Nach 3 Passagen in inaktivem Kaninchennormalserum tritt eine deutliche, wenn auch nicht voll ausgeprägte Festigkeit gegen aktives Kaninchenserum in die Erscheinung. Die inaktive Normalserumkultur bewahrt auch nach 3 Passagen in inaktivem Kaninchenserum die ursprüngliche Empfindlichkeit gegen aktives Kaninchenserum.

Tabelle III (22. 6. 1916).

Ist der Typhusstamm 261 nach 4 Passagen durch aktives Kaninchenserum fest gegenüber aktivem Kaninchennormalserum?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Ausgangsstamm 261, durch 4 Bouillonpassagen geschickt.
II. Stamm 261, durch 4 Passagen in aktivem Kaninchennormalserum gezüchtet.
III. Stamm 261, durch 4 Passagen in inaktivem Kaninchennormalserum gezüchtet.

Diese Stämme werden geprüft gegen

1. aktives Kaninchennormalserum,
2. inaktives Kaninchennormalserum

in folgender Weise:

Je 0·1 $^1/_{50}$ jeder Kultur, mit 0·85 prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in

1. 1 ccm aktives Kaninchennormalserum,
2. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,
3. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum.



Kontrollen: a) 1 ccm aktives Kaninchennormalserum } unbeimpft.
b) 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum }

Röhrchen 3 wird sofort zur Bestimmung der Einsaat, mit 10 ccm Agar vermischt, zur Platte ausgegossen; Röhrchen 1, 2 und Kontrollen a, b werden nach 3 stündiger Bebrütung bei 37° in gleicher Weise behandelt.

Plattenauszählung am 23. 6. 1916.

Stamm I, Ausgangsstamm:
1. 2·8 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 80 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm II, Kultur in aktivem Kaninchenserum:
1. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. 46·3 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm III, Kultur in inaktivem Kaninchennormalserum:
1. 1·1 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 80 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Kontrollen a und b: Steril.

Resultat: Nach 4 Passagen in aktivem normalen Kaninchenserum ist die Festigkeit des Typhusstammes 261 gegen aktives Kaninchenserum voll entwickelt. Die ursprüngliche Empfindlichkeit des Stammes gegen aktives normales Kaninchenserum wird durch viermalige Passage durch inaktives Kaninchennormalserum nicht verändert.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß sich die Festigkeit des Typhusstammes 261 gegen aktives, stark bakterizides Kaninchenserum in wenigen Passagen entwickelt. Sie ist, wie Tabelle II zeigt, auch nach 3 Passagen im Vergleich zu der Serumempfindlichkeit des Ausgangsstammes bereits deutlich ausgeprägt, immerhin aber noch nicht maximal, da ein erheblicher Teil der eingesäten Keime durch aktives Kaninchenserum noch abgetötet wird. Nach 4 Passagen in aktivem normalen Kaninchenserum ist sie voll entwickelt. Die in das aktive Kaninchenserum eingesäten Bazillen vermehren sich mit der gleichen Lebhaftigkeit wie die des aktiven Serums, während der Ausgangsstamm durch das gleiche aktive Serum stark abgetötet wird. (Von 80 Kolonien auf 2·8 Kolonien im Gesichtsfeld.) Eine Festigung des Typhusstammes 261 in inaktivem Kaninchenserum findet nicht statt.

Prinzipiell das gleiche Bild bietet der Typhusstamm F, der bereits nach 3 Passagen durch aktives Kaninchennormalserum unempfindlich gegen die bakteriziden Substanzen des normalen aktiven Kaninchenserums geworden ist.

Tabelle IV (21. 8. 1916).

Ist der Typhusstamm F nach 3 Passagen durch aktives und inaktives Kaninchennormalserum fest gegen aktives normales Kaninchenserum?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Ausgangsstamm F, durch 3 Bouillonpassagen geschickt.

II. Stamm F, durch 3 Passagen in aktivem Kaninchennormalserum gezüchtet.

III. Stamm F, durch 3 Passagen in inaktivem Kaninchennormalserum gezüchtet.

Diese Stämme werden geprüft gegen

1. aktives Kaninchennormalserum,
2. inaktives Kaninchennormalserum.

Versuchsanordnung wie in Tab. III.

Plattenauszählung am 22. 8. 1916.

Stamm I, Ausgangsstamm:

1. 0·06 Kolonien im Gesichtsfeld } Aussaat nach 3 stündiger
2. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld } Bebrütung bei 37°.
3. Etwa 70 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm II, Kultur in aktivem Kaninchennormalserum:

1. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld } Aussaat nach 3 stündiger
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld } Bebrütung bei 37°.
3. 54·8 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm III, Kultur in inaktivem Kaninchennormalserum:

1. 0·12 Kolonien im Gesichtsfeld } Aussaat nach 3stündiger
2. Etwa 150 bis 200 Kolonien im Gesichtsfeld } Bebrütung bei 37°.
3. 32·9 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Kontrollen: Steril.

Resultat: Die durch 3 Passagen von aktivem Kaninchennormalserum hindurchgeschickten Bazillen des Stammes F sind nach 3 Passagen fest gegen die bakteriziden Körper des aktiven normalen Kaninchenserums. Die Serumempfindlichkeit des durch 3 Passagen von inaktivem Kaninchenserum gezüchteten Typhusstammes F entspricht der des Ausgangsstammes.

Zeigt das Beispiel der beiden Typhusstämme 261 und F, daß die in aktivem normalen Kaninchenserum gezüchteten Typhusbazillen in wenigen Passagen sich gegen die bakteriziden Körper des normalen Kaninchenserums festigen, so geht aus unseren weiteren Erfahrungen an drei anderen typischen Stämmen hervor, daß dieser rasche Eintritt der Festigkeit etwas Gesetzmäßiges darstellt, und daß die Festigkeit des Typhusbacillus gegenüber aktivem Normalserum des Kaninchens in bemerkenswerter Unabhängigkeit







von der Individualität des Serums und des Stammes nach 3 bis 4 Serumpassagen voll entwickelt ist. Da die Methode der folgenden Experimente mit der der bisherigen Versuche übereinstimmt, so dürfte die Wiedergabe der charakteristischen experimentellen Daten genügen.

Tabelle V.

Typhusstamm Krüger 0·1 $^{1}/_{50}$ ccm.

1. Passage durch aktives und inaktives Kaninchennormalserum.

18. 8. 1916.

I. Ausgangsstamm (Bouillonkultur):

1. 0·46 Kolonien im Gesichtsfeld } Aussaat nach 3 Stunden
2. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld } bei 37°.
3. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

II. Kultur in inaktivem Kaninchennormalserum (1. Passage):

1. 0·2 Kolonien im Gesichtsfeld } Aussaat nach 3 Stunden
2. Etwa 80 Kolonien im Gesichtsfeld } bei 37°.
3. 20·2 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

20. 8. 1916.

3. Passage durch aktives und inaktives Kaninchennormalserum.

I. Ausgangsstamm (Bouillonkultur):

1. 0·8 Kolonien im Gesichtsfeld } Aussaat nach 3 Stunden
2. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld } bei 37°.
3. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

II. Kultur in aktivem Kaninchennormalserum (3. Passage):

1. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld } Aussaat nach 3 Stunden
2. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld } bei 37°.
3. Etwa 70 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

III. Kultur in inaktivem Kaninchennormalserum (3. Passage):

1. 1·2 Kolonien im Gesichtsfeld } Aussaat nach 3 Stunden
2. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld } bei 37°.
3. Etwa 150 bis 200 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Tabelle VI (19. 9. 1916).

A. Typhusstamm Ziegler 0·1 $^{1}/_{50}$ ccm.

3. Passage durch aktives und inaktives Kaninchennormalserum.

I. Ausgangsstamm (Bouillonkultur):

1. 0·1 Kolonien im Gesichtsfeld } Aussaat nach 3 Stunden
2. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld } bei 37°.
3. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

II. Kultur in aktivem Kaninchennormalserum (3. Passage):

1. Etwa 90 Kolonien im Gesichtsfeld } Aussaat nach 3 Stunden
2. Etwa 80 Kolonien im Gesichtsfeld } bei 37°.
3. 40·6 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).



B. Typhusstamm Kusczguska 0·1 $^{1}/_{50}$ ccm.
3. Passage durch aktives und inaktives Kaninchennormalserum.

I. Ausgangsstamm (Bouillonkultur):

1. 0·33 Kolonien im Gesichtsfeld } Aussaat nach 3 Stunden
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld } bei 37°.
3. Etwa 150 bis 200 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

II. Kultur in aktivem Kaninchennormalserum (3. Passage):

1. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld } Aussaat nach 3 Stunden
2. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld } bei 37°.
3. 51·3 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Fassen wir die bisherigen Versuche zusammen, so ergibt sich aus ihnen, daß die der abtötenden Wirkung des aktiven Kaninchenserums entgehenden Typhusbazillen nach 3 bis 4 Passagen durch aktives Kaninchennormalserum einen Festigkeitsgrad aufweisen, der sie befähigt, in dem hochbakteriziden aktiven Kaninchenserum nicht nur sich zu erhalten, sondern auch wie in inaktivem Serum sich zu vermehren.

Die Versuche der Tabb. III bis V lehren weiter, daß auch nach 3 Passagen durch inaktives Kaninchenserum die Typhusbazillen voll empfindlich bleiben, und daß somit die Züchtung der Typhusbazillen in inaktivem Serum ohne Einfluß auf die bakterizide Serumempfindlichkeit der Bazillen bleibt. Daß es sich hierbei nicht bloß etwa um eine Verzögerung in der zeitlichen Entwicklung der Festigkeit, sondern um eine dauernde Unfähigkeit des inaktiven Serums, eine Bakterizidiefestigkeit zu erzeugen, handelt, demonstriert der folgende Versuch der Tab. VII.

Tabelle VII (1. 8. 1916).

Läßt sich durch lang fortgesetzte Züchtung von Typhusbazillen in inaktivem normalen Kaninchenserum eine Festigkeit gegen aktives normales Kaninchenserum erzielen?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Ausgangsstamm 261, 24 stündige Bouillonkultur.
II. Stamm 261, durch 44 Passagen in aktivem Kaninchennormalserum gezüchtet.
III. Stamm 261, durch 44 Passagen in inaktivem Kaninchennormalserum gezüchtet.

Diese Stämme werden geprüft gegen

1. aktives Kaninchennormalserum,
2. inaktives Kaninchennormalserum

in folgender Weise:





Je 0·1 $^1/_{50}$ ccm jeder Kultur, mit 0·85 prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in

1. 1 ccm aktives Kaninchennormalserum,
2. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,
3. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum.

Kontrollen: a) 1 ccm aktives Kaninchennormalserum } unbeimpft.
b) 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum }

Röhrchen 3 wird sofort zur Bestimmung der Einsaat, mit 10 ccm Agar vermischt, zur Platte ausgegossen; Röhrchen 1, 2 und Kontrollen a, b werden nach 3 Stunden langer Bebrütung bei 37° zur Platte verarbeitet.

Plattenauszählung am 2. 8. 1916.

Stamm I, Ausgangsstamm:

1. 0·5 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 60 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Kultur in aktivem Kaninchenserum:

1. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 80 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm III, Kultur in inaktivem Kaninchennormalserum:

1. 0·04 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrolle a und b: Steril.

Während der in aktivem Kaninchennormalserum durch 44 Passagen fortgezüchtete Typhusstamm durch aktives Kaninchenserum nicht mehr in seiner Entwicklungsfähigkeit gehemmt wird und sich genau so gut wie in dem inaktiven Normalserum vermehrt, wird der in der gleichen Zahl von Passagen in inaktivem Kaninchenserum weitergeführte Stamm durch aktives Serum ähnlich wie der Ausgangsstamm kräftig abgetötet, ohne einen nachweisbaren Grad von Festigkeit erlangt zu haben.

Zur Ausbildung der Serumfestigkeit des Typhusbazillus im Normalserum ist somit die Anwesenheit des Komplements unbedingt erforderlich.

## II.

## Untersuchungen über die Bedeutung des bakteriziden Ambozeptors für die Entstehung der Serumfestigkeit des Typhusbacillus gegen aktives Kaninchennormalserum.

Zeigen die vorangehenden Versuche, daß entgegen Tsuda und in Übereinstimmung mit Trommsdorff, Cohn, Braun und Feiler die

Serumfestigkeit des Typhusbacillus nur in aktivem Serum zur Entwicklung gelangt, und daß auch ein wochenlanger Kontakt der Typhusbazillen mit inaktivem Kaninchenserum nicht ausreicht, um sie in den Zustand der Serumempfindlichkeit zu versetzen, so bleibt doch damit noch die Frage offen, ob nicht unter ausschließlicher Beteiligung des bakteriziden Immunkörpers bei Ausschaltung des Komplementes die Festigkeit des Typhusbacillus gegen die bakteriziden Serumsubstanzen sich ausbilden kann. Solche Versuche sind bisher nur von Braun und Feiler ausgeführt worden. Auch wir haben unsere Typhusstämme lange Zeit durch aktives und inaktives Immunserum hindurchgeschickt.

Zur Gewinnung des Immunserums wurden 2 Kaninchen im Abstande von 8 Tagen mit steigenden Mengen einer mit 0·85 prozentiger Kochsalzlösung abgeschwemmter und 1 Stunde auf 55° erhitzter Agarkultur des Stammes 261 intraperitoneal und intravenös immunisiert und 8 Tage nach der 4. Injektion steril entblutet. Die Agglutinationstitergrenze betrug bei dem einen Kaninchen 1:51200, bei dem anderen 1:25600. Das gewonnene Immunserum wurde 1/2 Stunde bei 56° im Wasserbade inaktiviert.

Die Züchtung des Stammes 261 in Kaninchenimmunserum wurde nach der Methode von Braun und Feiler folgendermaßen vorgenommen:

Zu je 1 ccm aktivem und inaktivem normalen Kaninchenserum wurde 0·1 ccm des Immunserums hinzugefügt. Die Mischung von 1 ccm inaktivem Kaninchenserum und 0·1 ccm Immunserum wurde mit der Agarkultur des Ausgangsstammes, das reaktivierte Immunserum mit der Typhuskultur in aktivem Kaninchennormalserum geimpft, die inzwischen durch 35 Passagen in aktivem Serum gezüchtet worden war. Auch die Überimpfung der Kulturen in Immunserum wurde täglich vorgenommen.[1] Die Reinheit der Kulturen wurde regelmäßig kontrolliert. Namentlich die Anwendung der Lackmusmolke leistete uns hierbei wertvolle Dienste.

Auf diese Weise wurden von dem Ausgangsstamm 261 4 Tochterstämme abgezweigt, die in aktivem und inaktivem Kaninchenserum. sowie in reaktiviertem und inaktivem Kaninchenimmunserum fortgezüchtet wurden.

Tabelle VIII (8. 8. 1916).

Läßt sich durch lang fortgesetzte Züchtung von Typhusbazillen in inaktivem Kaninchenimmunserum eine Festigkeit gegen aktives normales Kaninchenserum und reaktiviertes Kaninchenimmunserum erzielen?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Ausgangsstamm 261 (Bouillonkultur).
II. Stamm 261, durch 50 Passagen in inaktivem normalen Kaninchenserum gezüchtet.

[1] Diese tägliche Impffolge konnte zweimal wegen Verunreinigung der Serumkulturen nicht eingehalten werden. Die Weiterimpfung erfolgte in diesen Fällen (5. 8. und 17. 8. 16) nochmals von den Kulturen der vorangehenden Versuchstage. Diese Tage wurden daher als Passagentage nicht berechnet.

III. Stamm 261, durch 50 Passagen in aktivem normalen Kaninchenserum gezüchtet.

IV. Stamm 261, zuerst durch 35 Passagen in aktivem normalen Kaninchenserum vorgezüchtet, hierauf 15 Passagen durch 1 ccm aktives Kaninchennormalserum + 0·1 ccm Kaninchenimmunserum (Widal 1:51200) hindurchgeschickt.

V. Stamm 261, 15 Passagen in inaktivem normalen Kaninchenserum + 0·1 ccm Kaninchenimmunserum gezüchtet.

Die Stämme werden geprüft gegen

1. aktives Kaninchennormalserum,
2. reaktiviertes Kaninchenimmunserum,
3. inaktives Kaninchennormalserum,
4. inaktives Kaninchenimmunserum

in folgender Weise:

Je 0·1 $^1/_{50}$ ccm jeder Kultur, mit 0·85 prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in

1. 1 ccm aktives Kaninchennormalserum + 0·1 ccm Kochsalzlösung.
2. 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0·1 ccm Kaninchenimmunserum.
3. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum + 0·1 ccm Kochsalzlösung.
4. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum + 0·1 ccm Kaninchenimmunserum.
5. 1·1 ccm Bouillon (Einsaat).

Kontrollen: a) 1 ccm aktives Kaninchennormalserum + 0·1 ccm Kochsalzlösung (unbeimpft).
b) 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum + 0·1 ccm Kaninchenimmunserum (unbeimpft).

Röhrchen 5 wird zur Bestimmung der Einsaat sofort zur Platte ausgegossen, die übrigen Röhrchen nach 3 Stunden bei 37°.

Plattenauszählung am 9. 8. 1916.

Stamm I, Ausgangsstamm:

1. 0·9 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. 1·6 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 60 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm II, Kultur in inaktivem Kaninchennormalserum:

1. 1·6 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. 4·2 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 90 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm III, Kultur in aktivem Kaninchennormalserum:

1. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).



Stamm IV, Kultur in reaktiviertem Kaninchenimmunserum:
1. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm V, Kultur in inaktivem Kaninchenimmunserum:
1. 0·7 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. 2·9 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 70 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrolle a und b: Steril.

Resultat: Die aktive Normalserumkultur (Stamm III, 50. Passage) und die Kultur in reaktiviertem Immunserum (Stamm IV, 15. Passage) erweisen sich gegenüber aktivem normalen Kaninchenserum und reaktiviertem Kaninchenimmunserum völlig fest. Die inaktive Normalserumkultur (Stamm II, 50. Passage) und die Kultur in inaktivem Kaninchenimmunserum (Stamm V, 15. Passage) werden ebenso wie der Ausgangsstamm von aktivem Kaninchennormalserum stark abgetötet.

Tabelle IX (23. 8. 1916).

Läßt sich durch lang fortgesetzte Züchtung in inaktivem Kaninchenimmunserum eine Festigkeit der Typhusbazillen gegen aktives Kaninchennormalserum erzielen?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Ausgangsstamm 261, 24stündige Bouillonkultur.

II. Stamm 261, durch 64 Passagen in inaktivem normalen Kaninchenserum gezüchtet.

III. Stamm 261, durch 64 Passagen in aktivem normalen Kaninchenserum gezüchtet.

IV. Stamm 261, zuerst durch 35 Passagen in aktivem normalen Kaninchenserum vorgezüchtet, hierauf durch 29 Passagen in 1 ccm aktivem Kaninchennormalserum + 0·1 ccm Kaninchenimmunserum (Widal 1: 51200) hindurchgeschickt.

V. Stamm 261, 29 Passagen in inaktivem normalen Kaninchenserum + 0·1 ccm Kaninchenimmunserum gezüchtet.

Diese Stämme werden geprüft gegen
1. aktives Kaninchennormalserum,
2. inaktives Kaninchennormalserum

in folgender Weise:

Je 0·1 $^1/_{50}$ ccm jeder Kultur, mit 0·85prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in



1. 1 ccm aktives Kaninchennormalserum,
2. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,
3. 1 ccm Bouillon (Einsaat).

Kontrollen: a) 1 ccm aktives Kaninchennormalserum } unbeimpft.
b) 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum }

Röhrchen 3 wird sofort zur Bestimmung der Einsaat, mit 10 ccm Agar vermischt, zur Platte ausgegossen, die übrigen Röhrchen nach 3 Stunden bei 37°.

Plattenauszählung am 24. 8. 1916.

Stamm I, Ausgangsstamm:
1. 3·7 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm II, Kultur in inaktivem Kaninchennormalserum:
1. 2·9 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm III, Kultur in aktivem Kaninchennormalserum:
1. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm IV, Kultur in reaktiviertem Kaninchenimmunserum:
1. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld (Einsaat).

Stamm V, Kultur in inaktivem Kaninchenimmunserum:
1. 1·2 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 70 Kolonien im Gesichtsfeld (Eiesaat).

Kontrolle a und b: Steril.

Resultat: Die Kultur in aktivem Kaninchennormalserum (Stamm III, 64. Passage) und die Kultur in reaktiviertem Immunserum (Stamm IV, 29. Passage) werden durch aktives normales Kaninchenserum nicht abgetötet. Dagegen bewahren die Kulturen in inaktivem Kaninchennormalserum (Stamm II, 64. Passage) und die Kultur in inaktivem Kaninchenimmunserum (Stamm V, 29. Passage) trotz der zahlreichen Passagen die Empfindlichkeit des Ausgangsstammes gegenüber der bakteriziden Wirkung des aktiven normalen Kaninchenserums.

Die Festigung des Typhusbacillus gegen die bakteriziden Substanzen des Serums tritt somit nur in aktivem Serum ein, in welchem sie bei Fortzüchtung durch zahlreiche Passagen ungeschwächt erhalten bleibt. Auch bei Fortzüchtung in reaktiviertem Immunserum bleibt die in



aktivem normalen Kaninchenserum erworbene Festigkeit gegen aktives Kaninchennormalserum und reaktiviertes Kaninchenimmunserum bestehen. Dagegen vermag auch die lang andauernde Züchtung der Typhusbazillen in inaktivem Normal- und Immunserum nicht den Zustand der Serumfestigkeit herbeizuführen.

Die hier gewonnenen Ergebnisse stehen im Widerspruch mit den bereits geschilderten Resultaten Tsudas und in völliger Übereinstimmung mit den Befunden von Braun und Feiler. Während Trommsdorff und Cohn ihre Züchtungen nur bis zu höchstens 11 Passagen fortsetzten und ausschließlich normales Kaninchenserum verwendeten, wurden, wie bei Braun und Feiler, unsere Züchtungsversuche über viele Wochen ausgedehnt, und auch Kulturen in Immunserum angelegt. So wurde unser Stamm 261 bis zu 64 Passagen und mehr in aktivem und inaktivem Kaninchennormalserum fortgeführt und durch 29 Passagen durch reaktiviertes und inaktives Kaninchenimmunserum hindurchgeschickt. Wenn trotz dieser 29 Passagen in inaktivem Normal- und Immunserum eine Serumfestigkeit des Typhusbacillus sich nicht einstellte, während sie in aktivem Serum bereits nach 3 bis 4 Tagen in die Erscheinung trat, so dürfte in Übereinstimmung mit Cohn, Braun und Feiler der Schluß hiernach gerechtfertigt sein, daß an dem Zustandekommen der Serumfestigkeit des Typhusbacillus nicht allein der bakterizide Ambozeptor beteiligt sein kann, sondern daß für die Entstehung der Serumfestigkeit beide Serumkomponenten, insbesondere das thermolabile Komplement, notwendig erforderliche Faktoren darstellen. Wir schließen uns der Nomenklatur von Braun und Feiler an, die die unter dem Einfluß des Komplexes Ambozeptor + Komplement entstehende Serumfestigkeit unter dem prägnanteren Begriff der Bakterizidiefestigkeit zusammenfassen.

## III.

## Untersuchungen über die Entwicklung der Bakterizidiefestigkeit von Typhusbazillen bei Züchtung in aktivem Kaninchenimmunserum.

Wir sind im weiteren Verlaufe unserer Experimente dazu übergegangen, die Festigung der Typhusbazillen primär gegen Kaninchenimmunserum vorzunehmen. Maßgebend für diese Versuche waren Gesichtspunkte, die sich aus der Genese des Typhusrezidivs ergaben, das, wie wir gesehen haben, auch bei hohem bakteriziden Titer des Serums einzusetzen vermag. Wir legten die Hilfshypothese zugrunde, daß die Entstehung

des Typhusrezidivs auf eine gesteigerte Festigung der im Körper des Rekonvaleszenten zurückgebliebenen Typhusbazillen zurückzuführen sei. Auch Friedberger neigt sich der Ansicht zu, daß das Auftreten von Typhusrezidiven bei hohem bakteriolytischen Titer auf einen besonders hohen Grad von Serumfestigkeit der Typhusbazillen zurückzuführen sei.[1] Es war daher zu erwarten, daß bei dem reichen Gehalt des Serums an bakteriziden Immunkörpern sich die Festigung der Typhusbazillen zwar schwieriger vollziehen würde als in normalem Serum, daß jedoch die Bakterizidiefestigkeit gegen aktives Immunserum auch eine Festigkeit gegen aktives Normalserum in sich schließen würde. Diese Erwartungen trafen nicht zu, wie der folgende Versuch zeigt.

Tabelle X (21. 8. 1916).

Wie verhält sich der durch 4 Passagen in aktivem normalen Kaninchenserum und reaktiviertem Kaninchenimmunserum gezüchtete Stamm 261 gegen a) aktives normales Kaninchenserum und b) reaktiviertes Kaninchenimmunserum?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Bouillonkultur des Ausgangsstammes 261.

II. Stamm 261, durch 4 Passagen in aktivem normalen Kaninchenserum + 0·1 ccm inaktives Kaninchennormalserum gezüchtet,

III. Stamm 261, 4 Passagen in 1 ccm aktivem normalen Kaninchenserum + 0·1 ccm inaktivem Kaninchenimmunserum gezüchtet (Widal 1:25600).

Diese Stämme werden geprüft gegen

1. aktives Kaninchennormalserum,
2. inaktives Kaninchennormalserum,
3. reaktiviertes Kaninchenimmunserum,
4. inaktives Kaninchenimmunserum

in folgender Weise:

Je 0·1 $^1/_{50}$ ccm jeder Kultur, mit 0·85 prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in

1. 1 ccm aktives Kaninchennormalserum + 0·1 ccm Kochsalzlösung.
2. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum + 0·1 ccm Kochsalzlösung.
3. 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0·1 ccm Kaninchenimmunserum.
4. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum + 0·1 ccm Kaninchenimmunserum.
5. 1·1 ccm Bouillon (Einsaat).

Kontrollen: a) 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0·1 ccm Kochsalzlösung (unbeimpft).
b) 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum + 0·1 ccm Kaninchenimmunserum (unbeimpft).

Röhrchen 5 wird sofort zur Platte ausgegossen, die übrigen Röhrchen nach 3 Stunden bei 37°.

[1] Kolle-Wassermann II. 1. 1913. Seite 334.



Plattenauszählung am 22. 8. 1916.

Stamm I, Ausgangsstamm:

1. 0·8 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 70 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Kultur in aktivem Kaninchennormalserum:

1. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 70 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm III, Kultur in reaktiviertem Kaninchenimmunserum:

1. 22·1 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 90 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrolle a und b: Steril.

Resultat: Die durch 4 Passagen in aktivem normalen Kaninchenserum gezüchteten Typhusbazillen sind gegen aktives Kaninchennormalserum und reaktiviertes Kaninchenimmunserum bakterizidiefest. Die in reaktiviertem Kaninchenimmunserum gezüchteten Typhusbazillen weisen zwar nach 4 Passagen eine gewisse Festigkeit gegen aktives Kaninchennormalserum und reaktiviertes Kaninchenimmunserum auf, werden aber immerhin doch deutlich bakterizid beeinflußt. Die bakterizide Kraft des reaktivierten Kaninchenimmunserums ist, wie vor allem das Verhalten des Ausgangsstammes zeigt, wesentlich geringer als die des normalen aktiven Kaninchenserums ohne Zusatz von inaktivem Immunserum.

Die Verringerung der bakteriziden Kraft des aktiven normalen Kaninchenserums durch Zusatz von Immunserum erklärt sich durch das Neisser-Wechsbergsche (29) Phänomen der Komplementablenkung. Es macht auch das Ausbleiben der maximalen Bakterizidiefestigkeit des im Kaninchenimmunserum gezüchteten Stammes verständlich, der in allen Passagen geringeren bakteriziden Einwirkungen ausgesetzt bleibt als der im aktiven Normalserum gezüchtete Stamm. Wie die Komplementablenkung vor allem ein Reagenzglasphänomen ist und im Tierkörper jedenfalls zu den Seltenheiten gehört, so lassen auch die eben geschilderten Ergebnisse keine Rückschlüsse auf die Verhältnisse im erkrankten Organismus zu.



## IV.

## Untersuchungen über die Spezifität der Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen.

Die folgenden Versuche beschäftigen sich mit der Spezifität der Bakterizidiefestigkeit der gegen aktives normales Kaninchenserum gefestigten Typhusbazillen. Es wurde die Frage untersucht, ob die in den bisherigen Versuchen beobachtete Unempfindlichkeit der in aktivem Kaninchenserum gezüchteten Stämme gegenüber der bakteriziden Wirkung von aktivem Kaninchennormalserum streng spezifischer Natur ist, d. h. sich nur Kaninchenserum gegenüber äußert oder ob sie auch gegenüber anderen typhusbakteriziden Seris in die Erscheinung tritt. Von heterologen Seris wurden Hundeserum, Meerschweinchenserum und Menschenserum geprüft.

### Tabelle XI (26. 7. 1916).

Ist der gegen aktives Kaninchennormalserum feste Typhusstamm auch fest gegen aktives Normalserum des Hundes und des Meerschweinchens?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Ausgangsstamm 261, 24stündige Bouillonkultur.
II. Stamm 261, durch 38 Passagen in aktivem normalen Kaninchenserum gezüchtet.

Die Stämme werden geprüft gegen
1. aktives normales Kaninchenserum,
2. inaktives normales Kaninchenserum,
3. aktives normales Hundeserum,
4. inaktives normales Hundeserum,
5. aktives Meerschweinchenserum,
6. inaktives Meerschweinchenserum

in folgender Weise:

Je $0 \cdot 1\ ^1/_{100}$ ccm jeder Kultur, mit $0 \cdot 85$ prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in

1. 1 ccm aktives normales Kaninchenserum,
2. 1 ccm inaktives normales Kaninchenserum,
3. 1 ccm inaktives normales Kaninchenserum (Einsaat),
4. 1 ccm aktives normales Hundeserum,
5. 1 ccm inaktives normales Hundeserum,
6. 1 ccm inaktives normales Hundeserum (Einsaat),
7. 1 ccm aktives normales Meerschweinchenserum,
8. 1 ccm inaktives normales Meerschweinchenserum,
9. 1 ccm inaktives normales Meerschweinchenserum (Einsaat).

Kontrollen: a) 1 ccm aktives Kaninchennormalserum }
b) 1 ccm aktives Hundeserum } unbeimpft.
c) 1 ccm aktives Meerschweinchenserum }



Röhrchen 3, 6 und 9 werden mit 10 ccm Agar sofort zur Platte ausgegossen, die übrigen Röhrchen nach 3 Stunden bei 37°.

Plattenauszählung am 27. 7. 1916.

Stamm I, Ausgangsstamm:

1. 0·28 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 60 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. 3·6 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 70 Kolonien im Gesichtsfeld.
7. 0·44 Kolonien im Gesichtsfeld.
8. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
9. Etwa 80 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Kultur in aktivem Kaninchennormalserum:

1. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. 45·7 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 70 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 70 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. 35·2 Kolonien im Gesichtsfeld.
7. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
8. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
9. 41·6 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrollen a, b und c: Steril.

**Resultat:** Der gegen aktives Kaninchenserum feste Typhusstamm ist auch fest gegen aktives normales Hundeserum und aktives normales Meerschweinchenserum.

Tabelle XII (28. 7. 1916).

Ist der gegen aktives Normalserum bakterizidiefeste Typhusstamm auch fest gegen aktives normales Menschenserum?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Bouillonkultur des Ausgangsstammes 261.
II. Stamm 261, 40 Passagen in aktivem Kaninchennormalserum gezüchtet.

Die Stämme werden geprüft gegen

1. aktives normales Kaninchenserum,
2. inaktives normales Kaninchenserum,
3. aktives normales Menschenserum,
4. inaktives normales Menschenserum

in folgender Weise:

Je 0·1 $^1/_{100}$ ccm jeder Kultur, mit 0·85 prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in



1. 1 ccm aktives Kaninchennormalserum,
2. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,
3. 1 ccm inaktives normales Kaninchenserum (Einsaat),
4. 1 ccm aktives normales Menschenserum,
5. 1 ccm inaktives normales Menschenserum,
6. 1 ccm inaktives normales Menschenserum (Einsaat).

Kontrollen: a) 1 ccm aktives Kaninchenserum } unbeimpft.
b) 1 ccm aktives Menschenserum }

Das Menschenserum stammte von einem gesunden, ungeimpften Individuum.

Röhrchen 3 und 6 werden mit je 1 ccm Agar sofort zur Platte ausgegossen, die übrigen Röhrchen nach 3 Stunden bei 37°.

Plattenauszählung am 29. 7. 1916.

Stamm I, Ausgangsstamm:

1. 13·6 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 70 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Steril.
5. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 60 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Kultur in aktivem Kaninchennormalserum:

1. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 80 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrollen a und b: Steril.

Resultat: Der gegen aktives Kaninchenserum bakterizidiefeste Typhusstamm zeigt auch eine ausgesprochene Festigkeit gegen aktives normales Menschenserum.

Tabelle XIII (12. 10. 1916).

Ist der gegen aktives Kaninchenserum bakterizidiefeste Typhusstamm auch fest gegen aktives Serum eines gegen Typhus wiederholt Schutzgeimpften?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Bouillonkultur des Ausgangsstammes 261.

II. Stamm 261, in aktivem Kaninchennormalserum, durch 15 Passagen in aktivem normalen Kaninchenserum gezüchtet.

Versuchsanordnung wie bei Tab. XII. Impfmenge 0·1 $^1/_{50}$ ccm jeder Kultur, mit Kochsalzlösung verdünnt. Bebrütung 4 Stunden bei 37°.



Das Menschenserum stammt von einem vor etwa 2 Monaten zum letzten Male gegen Typhus geimpften Menschen. Widal 1:200 ±.

Plattenauszählung am 13. 10. 1916.

Stamm I, Ausgangsstamm:

1. 0·64 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 1000 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Steril.
5. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Kultur in aktivem Kaninchennormalserum:

1. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrollen a und b: Steril.

Resultat: Auch gegenüber dem aktiven Serum eines der Typhusschutzimpfung unterworfenen Menschen erweist sich der gegen aktives Kaninchenserum feste Typhusstamm als deutlich bakterizidiefest.

Es geht somit aus den Versuchen XI bis XIII hervor, daß die in aktivem Kaninchennormalserum erworbene Bakterizidiefestigkeit des Typhusbacillus nicht tierspezifisch ist, sondern auch anderen bakteriziden Seris, wie Hundeserum, Meerschweinchenserum und Menschenserum gegenüber zum Ausdruck kommt. Diese unspezifische Serumfestigkeit der Typhusbazillen ist auch von Cohn und Braun und Feiler gegenüber Hammelserum, Meerschweinchenserum und Menschenserum festgestellt worden.

Diese Nichtspezifität der Bakterizidiefestigkeit des Typhusbacillus ist wohl nicht im Sinne einer allgemeinen Resistenzsteigerung ohne weiteres zu erklären. Wenigstens zeigten unsere kaninchenserumfesten Stämme gegenüber chemotherapeutischen Agentien keine Herabsetzung der Empfindlichkeitsschwelle im Vergleich zu den entsprechenden Ausgangsstämmen. So wurde der Ausgangsstamm F und seine 23. Passage in aktivem Kaninchennormalserum durch eine 0·12prozentige Lösung von salzsaurem Optochin fast bis zur Sterilität abgetötet, während eine 0·06 prozentige Lösung sie kaum noch beeinflußte. Gegenüber Neosalvarsan zeigte der bakterizidiefeste Stamm 261 im Reagenzglase eine



erhöhte Empfindlichkeit, indem er innerhalb von 24 Stunden bei 37° noch bei einer Konzentration von 0·003 Prozent abgetötet wurde, bei der der Ausgangsstamm schon zur Entwicklung gelangte.

## V.

## Untersuchungen über das Verhalten kaninchenserumfester Typhusstämme bei Fortzüchtung in heterologen tierischen Normalseris und über die Relativität der Bakterizidiefestigkeit kaninchenserumfester Typhusbazillen gegenüber aktivem Menschenserum.

Eine bemerkenswerte Sonderstellung unter den in den vorangehenden Experimenten benutzten tierischen Sera nimmt das menschliche Serum ein. Während der gegen Kaninchenserum gefestigte Stamm zugleich auch gegen aktives Meerschweinchenserum maximal gefestigt ist und in beliebigen Passagen durch aktives Kaninchenserum und Meerschweinchenserum fortgezüchtet werden kann, ist die Bakterizidiefestigkeit des gleichen Stammes gegenüber aktivem Menschenserum keine absolute: bereits nach wenigen Passagen in aktivem Menschenserum geht der gegen aktives Kaninchenserum gefestigte Typhusstamm zugrunde.

### Tabelle XIV (6. 10. 1916).

Verhalten eines gegen aktives Kaninchenserum festen Typhusstammes nach Überführung in aktives Kaninchenserum und aktives Menschenserum.

Der gegen aktives Kaninchenserum bakterizidiefeste Stamm 261 wird nach 9 Passagen in aktivem Kaninchenserum auf aktives und inaktives Kaninchen- und Menschenserum in einer Menge von 0·1 $^1/_{100}$ ccm überimpft. Nach den im Protokoll angegebenen Zeiten wird der Inhalt der Röhrchen mit 10 ccm Agar zur Platte verarbeitet.

Plattenauszählung nach 24 Stunden bei 37°.

| Serum | Nach Beimpfung mit 0·1 $^1/_{100}$ ccm aktive Kaninchenserumkultur wird der Röhrcheninhalt zu Platten ausgegossen: | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Sofort | Nach 3^h | Nach 6^h | Nach 10^h | Nach 22^h | Nach 48^h |
| Akt.-Kan.-Serum | — | 250 Kol. | 600 Kol. | fast ∞ | ∞ | ∞ |
| Inakt.-Kan.-Serum | 150 Kol. | 250 " | 600 " | ∞ | ∞ | ∞ |
| Akt.-Mensch.-Ser. | — | 200 " | 150 " | 300 Kol. | 300 Kol. | 150 Kol. |
| Inakt.-Mensch.-Ser. | 120 Kol. | 200 " | 200 " | 2000 " | fast ∞ | fast ∞ |

Kontrollen: a) 1 ccm aktives Kaninchenserum } unbeimpft.
b) 1 ccm aktives Menschenserum. }

Beide Kontrollröhrchen werden nach 22 Stunden bei 37° zur Platte ausgegossen und erweisen sich als steril.

Am 7. 10. 1916, 24 Stunden nach Beginn des Versuches, werden mit einer Verdünnung 0·1 $^{1}/_{100}$ (0·05 ccm + 4·95 ccm 0·85 prozentiger Kochsalzlösung) des mit * bezeichneten Röhrchens folgende Röhrchen beschickt:

2. Menschenserumpassage der aktiven Kaninchennormalserumkultur.

| Serum | Nach Beimpfung mit 0·1 $^{1}/_{100}$ ccm des * Röhrchens wird der Röhrcheninhalt zu Platten ausgegossen: | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Sofort | Nach 3h | Nach 6h | Nach 10h | Nach 22h | Nach 48h |
| Akt.-Mensch.-Ser. | — | 5·4 Kol. | 4·8 Kol. | 1·2 Kol. | 1·2 Kol. | steril |
| Inakt.-Mensch.-Ser. | 4·9 Kol. | 7·8 „ | 6·4 „ | 4·8 „ | 2·6 „ | steril |

Kontrolle: 1 ccm aktives Menschenserum (unbeimpft). Nach 22 Stunden bei 37° zur Platte ausgegossen. Steril.

Resultat: Bereits nach 6stündigem Aufenthalt in aktivem Menschenserum bleibt der kaninchenserumfeste Stamm im Wachstum gegenüber seinem Bruderstamm im aktiven Kaninchenserum deutlich zurück. Mit der Dauer des Aufenthaltes im Serum und der Zeit der Bebrütung mehren sich die Wachstumsunterschiede zwischen den Kulturen im Menschenserum und im Kaninchenserum. So ist nach 10 Stunden die Zahl der im aktiven Kaninchenserum ausgewachsenen Kolonien auf fast unendlich angestiegen, während der gleiche Stamm im aktiven Menschenserum nur eine geringfügige Vermehrung von 120 Kolonien auf etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld erfahren hat. Nach diesem unerheblichen Anstieg tritt im Wachstum der Menschenserumkultur ein Stillstand ein: auch nach 22stündiger Bebrütung der aktiven Menschenserumkultur ergibt sich gegenüber der 10 Stunden alten Menschenserumkultur kein Unterschied, während die Entwicklung im aktiven Kaninchenserum inzwischen auf unendlich fortgeschritten ist. Nach 48 Stunden langer Bebrütung machen sich bereits Absterbeerscheinungen in der aktiven Menschenserumkultur bemerkbar, in der nicht nur keine Vermehrung, sondern ein Sturz der Kolonienzahl auf 150 Kolonien im Gesichtsfeld stattfindet. Dieser Absterbeprozeß schreitet bei Überimpfung der 48stündigen Kultur in aktivem Menschenserum auf frisches Menschenserum weiter, in welchem die letzten Individuen des abgezweigten Stammes nach weiteren 48 Stunden abgestorben sind. Interessanterweise ist die Schädigung, die die kaninchenserumfesten Typhusbazillen durch den 48stündigen Aufenthalt in aktivem Menschenserum erfahren haben, hier so intensiv, daß auch bei Übertragung in das inaktivierte Menschenserum der Stamm langsam erlischt (vergleiche Tab. XIV, 2. Menschenserumpassage).





## Tabelle XV (12. 10. 1916).

Verhalten eines gegen aktives normales Kaninchenserum festen Typhusstammes nach Überführung in aktives Kaninchen- und Menschenserum.

I. Der gegen aktives Kaninchenserum bakterizidiefeste Stamm 261 wird nach 15 Passagen in aktivem Kaninchenserum auf aktives und inaktives Kaninchen- und Menschenserum in einer Menge von $0 \cdot 1\ ^1/_{100}$ ccm überimpft.

II. $0 \cdot 1\ ^1/_{100}$ ccm der 24stündigen Bouillonkultur des Typhusausgangsstammes 261 wird auf aktives und inaktives Kaninchen- und Menschenserum überimpft.

Das Menschenserum stammt von einem vor längerer Zeit Schutzgeimpften, dessen bakterizider Titer nach der Stern-Korteschen Methode $1 \cdot 0\ ^1/_{1000}$ betrug. Nach den im Protokoll angegebenen Zeiten wird der Inhalt der Röhrchen mit 10 ccm Agar zur Platte verarbeitet.

Plattenauszählung nach 24 Stunden bei 37°.

a) 12. 10. 16.

| Serum | Nach Beimpfung mit $0 \cdot 1^1/_{100}$ ccm der Stämme I und II wird der Röhrcheninhalt zu Platten ausgegossen | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Sofort | | Nach 4ʰ | | Nach 9ʰ | | Nach 24ʰ | | Nach 48ʰ | |
| | St. I | St. II | St. I | St. II | St. I | St. II | St. I | St. II | St. I | St. II |
| Aktives Kaninchenserum | — | — | 500 Kol. | 0·64 Kol. | ∞ | 0·52 Kol. | ∞ | 0·4 Kol. | ∞ | 10·3 Kol. |
| Inaktives Kaninchenserum | 150 Kol. | 300 Kol. | 400 Kol. | 1000 Kol. | ∞ | Fast ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| Aktives Menschenserum | — | — | 250 Kol. | steril | 250 Kol. | steril | 150 Kol. | steril | 300 Kol.* | steril |
| Inaktives Menschenserum | 150 Kol. | 300 Kol. | 300 Kol. | 400 Kol. | 600 Kol. | 600 Kol. | 700 Kol. | 250 Kol. | — | — |

Mit einer Verdünnung $0 \cdot 1\ ^1/_{20}$ ($0 \cdot 1$ ccm + $1 \cdot 9$ ccm $0 \cdot 85$ prozentiger Kochsalzlösung) des mit * bezeichneten Röhrchens werden 24 Stunden nach Beginn des Versuches frisches aktives und inaktives Kaninchen- und Menschenserum beschickt.

I. Kaninchenserumfester Stamm, nach 15 Passagen durch aktives Kaninchenserum einmal durch aktives Menschenserum hindurchgeführt.

II. 24stündige Bouillonkultur des Typhusausgangsstammes 261, der in einer Menge von $0 \cdot 1\ ^1/_{50}$ ccm auf aktives und inaktives Kaninchen- und Menschenserum übertragen wird.

III. Kaninchenserumfester Stamm, 16 Passagen durch aktives Kaninchenserum hindurchgeführt, wird in einer Verdünnung von $0 \cdot 1\ ^1/_{50}$ auf aktives und inaktives Kaninchen- und Menschenserum überimpft.

b) 13. 10. 16.

| Serum | Nach Beimpfung mit den Stämmen I, II und III wird der Röhrcheninhalt zu Platten ausgegossen: | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | sofort | | | Nach $4^h$ | | | Nach $6^h$ | | | Nach $24^h$ | | |
| | St. I | St. II | St. III | St. I | St. II | St. III | St. I | St. II | St. III | St. I | St. II | St. III |
| Aktives Kaninchenserum | — | — | — | 250 Kol. | 1·9 Kol. | 200 Kol. | 300 Kol. | — | 600 Kol. | ∞ | 0·2 Kol. | ∞ |
| Inaktives Kaninchenserum | 21·2 Kol. | 200 Kol. | 100 Kol. | 150 Kol. | 500 Kol. | 250 Kol. | 200 Kol. | — | 600 Kol. | ∞ | ∞ | ∞ |
| Aktives Menschenserum | — | — | — | 38·1 Kol. | 7Kol. in der Platte | 80 Kol. | 36·2 Kol. | — | 80 Kol. | 100 Kol.* | Fast steril | 100 Kol. |
| Inaktives Menschenserum | 26 Kol. | 200 Kol. | 90 Kol. | 26·4 Kol. | 300 Kol. | 150 Kol. | 45·5 Kol. | — | 150 Kol. | — | — | Fast ∞ |

Von dem mit * bezeichneten Röhrchen (II. aktive Menschenserumkultur des kaninchenserumfesten Stammes) wird nach 24stündiger Bebrütung unmittelbar vor der Verarbeitung zur Platte 0·1 $^1/_{10}$ ccm auf 1 ccm frisches aktives Menschenserum verimpft. Das Röhrchen wird nach 24 Stunden bei 37° am 15. 10. 1916 zur Platte ausgegossen.

Resultat am 16. 10. 1916: Steril.

Auch dieser Versuch zeigt im wesentlichen das gleiche Bild wie Tab. XIV. Auch hier wächst der kaninchenserumfeste Typhusstamm nach 4 Stunden in aktivem Menschenserum wesentlich schlechter als in aktivem Kaninchenserum und stirbt bei der 3. Passage durch aktives Menschenserum ab.

Die hier geschilderten Beispiele stellen das typische Verhalten kaninchenserumfester Typhusstämme in aktivem Menschenserum bei schwacher Überimpfung dar. Bei massiger Überimpfung (von 0·1 ccm Serumkultur) gelang es manchmal, den kaninchenserumfesten Typhusstamm in aktivem Menschenserum einige Tage (bis zur 7. Passage) dürftig zu erhalten, doch konnten wir auch mit dieser Methode das schließliche Erlöschen des Stammes im aktiven Menschenserum nicht aufhalten. Auch bei Überimpfung des kaninchenserumfesten Stammes in 2- bis 3tägigen Intervallen und massiger Überimpfung konnten wir unseren Stamm in überaus spärlichem Wachstum nur bis zur 6. Passage durch aktives Menschenserum hindurchbringen.

Als ursächliches Moment für das allmähliche Zugrundegehen des gegen aktives Kaninchenserum bakterizidiefesten Typhusstammes in aktivem Menschenserum wäre zunächst die Möglichkeit heranzuziehen, daß bei





Überführung des kaninchenserumfesten Stammes in aktives Menschenserum die Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen gebrochen wird. Daß diese Annahme nicht zutrifft, zeigt schon das Verhalten des Stammes I in Tab. XVb, der nach einmaliger Durchführung durch aktives Menschenserum sich aktivem Kaninchenserum gegenüber weiter bakterizidiefest erweist. Das gleiche zeigt in ausgesprochenem Maße der folgende Versuch.

Tabelle XVI (13. 8. 1916).

Verliert der kaninchenserumfeste Typhusstamm durch Übertragung in aktives Menschenserum seine Bakterizidiefestigkeit?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Stamm I, kaninchenserumfester Stamm 261, 5. Passage in aktivem Menschenserum. (Nach 49 Passagen durch aktives Kaninchenserum wird am 7. 8. 1916 der Stamm in 1 ccm aktives Menschenserum übertragen. Hierauf tägliche Überimpfung von 0·1 ccm Kulturmaterial auf 1 ccm frisches aktives Menschenserum nach 24stündiger Bebrütung bei 37°. In der 5. Passage durch aktives Menschenserum am 12. 8. 1916 kaum Wachstum. Zusatz von 9 ccm Bouillon. Nach 24stündiger Bebrütung bei 37° in der Serumbouillon mäßiges Wachstum.)

II. Stamm 261, Ausgangsstamm in Bouillon.

III. Stamm 261, 55 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtet.

Die Stämme werden geprüft gegen

1. aktives normales Kaninchenserum,
2. inaktives normales Kaninchenserum,

in folgender Weise:

Je $0 \cdot 1^1/_{50}$ ccm jeder Kultur, mit 0·85prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in

1. 1 ccm aktives Kaninchennormalserum,
2. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,
3. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,

Kontrollen: a) 1 ccm aktives Kaninchenserum,
b) 1 ccm inaktives Kaninchenserum.

Röhrchen 3 wird mit je 10 ccm Agar sofort zur Platte ausgegossen, die übrigen Röhrchen nach 24stündiger Bebrütung bei 37°.

Plattenauszählung am 14. 8. 1916.

Stamm I, Kultur aus aktivem Menschenserum:

1. 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. 200 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Ausgangsstamm:

1. 0·24 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.



Stamm III, Kultur in aktivem Kaninchenserum:

1. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 600 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 80 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrollen a und b: Steril.

Resultat: Der mehrere Passagen durch aktives Menschenserum fortgezüchtete kaninchenserumfeste Typhusstamm behält seine Bakterizidiefestigkeit gegen aktives Kaninchenserum.

Auch eine zweite Erklärungsmöglichkeit für das allmähliche Zugrundegehen des gegen Kaninchenserum bakterizidiefesten Typhusstammes in aktivem Menschenserum läßt sich als nicht stichhaltig ausschalten, nämlich daß das von uns verwendete Menschenserum von Schutzgeimpften stammt, somit also ein bakterizides Immunserum mit einem mehr oder minder beträchtlichen Antikörpergehalt darstellt. Wir haben bereits früher an dem Beispiel der Tab. X gezeigt, daß der gegen aktives Normalserum gefestigte Stamm auch fest gegen Immunserum ist, und weiter auch dargelegt, daß die bakterizide Kraft des reaktivierten Immunserums infolge Interferenz des Komplementablenkungsphänomens in vitro häufig geringer ist als die des normalen Serums. Das gleiche trifft auch, wie auch von Braun und Feiler festgestellt worden ist, für natives aktives Immunserum zu, wofür der folgende Versuch als Beleg dienen möge.

Tabelle XVII (15. 10. 1916).

Ist der gegen aktives Normalserum bakterizidiefeste Typhusstamm auch fest gegen aktives Immunserum?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Bouillonkultur des Ausgangsstammes 261.
II. Stamm 261, 18 Passagen in aktivem Kaninchennormalserum gezüchtet.

Die Stämme werden geprüft gegen

1. aktives normales Kaninchenserum,
2. inaktives normales Kaninchenserum,
3. aktives Kaninchenimmunserum,
4. inaktives Kaninchenimmunserum,

in folgender Weise:

Je 0·1 $^1/_{50}$ ccm jeder Kultur, mit 0·85 prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in

1. 1 ccm aktives Kaninchennormalserum,
2. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,
3. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,
4. 1 ccm aktives Kaninchenimmunserum,
5. 1 ccm inaktives Kaninchenimmunserum,
6. 1 ccm inaktives Kaninchenimmunserum.



Kontrollen: a) 1 ccm aktives Kaninchennormalserum } unbeimpft.
b) 1 ccm aktives Kaninchenimmunserum }

Das Immunserum stammt von einem Kaninchen, das im Abstande von 8 Tagen dreimal intraperitoneal mit aufsteigenden Mengen von bei 55° abgetötetem Typhusvakzin des Stammes 261 behandelt worden war. Letzte Impfung 20. 8. 1916.

Röhrchen 3 und 6 werden mit je 10 ccm Agar sofort zur Platte ausgegossen, die übrigen Röhrchen nach 4stündiger Bebrütung bei 37°.

Plattenauszählung am 16. 10. 1916.

Stamm I, Ausgangsstamm:

1. 0·02 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. 46·4 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 40 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 60 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Kultur in aktivem Kaninchennormalserum:

1. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 600 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 600 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrollen a und b: Steril.

Es geht aus diesem Versuche hervor, daß der gegen aktives Kaninchennormalserum bakterizidiefeste Stamm auch fest ist gegen aktives Immunserum, und daß bemerkenswerterweise die bakterizide Kraft auch des nativen Immunserums, wie sie gegenüber dem bakterizidieempfindlichen Stamm in die Erscheinung tritt, in vitro deutlich geringer als die des aktiven Normalserums sein kann.

Es hängt diese Erscheinung entweder mit einer Verringerung des Komplementgehaltes im Vergleich zum aktiven normalen Serum oder mit dem Phänomen der Neisser-Wechsbergschen Komplementablenkung zusammen.

Es resultiert hieraus für die beim aktiven Menschenserum hier vorliegenden Bedingungen, daß für das schließliche Zugrundegehen der kaninchenserumfesten Typhusbazillen in aktivem Menschenserum nicht der durch die Schutzimpfung gesteigerte Gehalt an bakteriziden Ambozeptoren als befriedigendes Erklärungsmoment herangezogen werden kann.

Es bleibt hiernach zur Erklärung der Relativität der Bakterizidiefestigkeit kaninchenserumfester Typhusbazillen gegenüber menschlichem Serum nur die Schlußfolgerung übrig, daß das aktive Menschenserum,

wie es auch die Ergebnisse der Versuche XII und XIII andeuten, anderen tierischen Seris an bakterizider Intensität überlegen ist, und daß den Typhusbazillen, ähnlich wie den Choleravibrionen, die Ausbildung einer maximalen Bakterizidiefestigkeit gegenüber menschlichem Serum in vitro verwehrt ist.

## VI.

## Untersuchungen über die Bakterizidiefestigkeit experimentell gegen Kaninchenserum gefestigter Typhusbazillen bei Übertragung auf flüssige und feste serumfreie Nährmedien.

Frisch aus dem erkrankten Körper gezüchtete Typhusbazillen zeigen bekanntlich häufig eine Herabsetzung ihrer Agglutinabilität und gewinnen erst nach mehrfacher Züchtung über feste Nährböden ihre frühere Agglutinabilität wieder. Es fragt sich, ob ähnliche Vorgänge auch für bakterizidiefeste Typhusbazillen Geltung haben. Von Braun und Feiler liegen Versuche vor, wonach die Bakterizidiefestigkeit von Typhusbazillen in Bouillonpassagen erst nach längerer Zeit, auf Agar in wenigen Passagen verschwindet.

Tabelle XVIII (8. 8. 1916).

Bewahren kaninchenserumfeste Typhusbazillen nach Übertragung aus aktivem Kaninchenserum auf Bouillon und Agar ihre Bakterizidiefestigkeit gegen aktives Kaninchen- und Menschenserum?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Kultur in aktivem Kaninchenserum, 50 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtet.
II. Kultur in aktivem Kaninchenserum, 49 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann 1 Passage in Bouillon gezüchtet.
III. Kultur in aktivem Kaninchenserum, 49 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann 1 Passage auf Agar gezüchtet.
IV. Bouillonkultur des Ausgangsstammes 261.
V. Agarkultur des Ausgangsstammes 261.

Die Stämme werden geprüft gegen

1. aktives normales Kaninchenserum,
2. inaktives normales Kaninchenserum,
3. aktives Menschenserum,
4. inaktives Menschenserum

in folgender Weise:

Je 0·1 $^1/_{50}$ ccm jeder Kultur (nur Agarkultur 0·1 $^1/_{1000}$ ccm), mit 0·85-prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in

1. 1 ccm aktives Kaninchennormalserum,
2. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,



3. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,
4. 1 ccm aktives Menschenserum,
5. 1 ccm inaktives Menschenserum,
6. 1 ccm inaktives Menschenserum.

Kontrollen: a) 1 ccm aktives Kaninchennormalserum } unbeimpft.
b) 1 ccm aktives Menschenserum

Röhrchen 3 und 6 werden mit je 10 ccm Agar sofort zur Platte ausgegossen, die übrigen Röhrchen nach 4stündiger Bebrütung bei 37°.

Plattenauszählung am 9. 8. 1916.

Stamm I, Kultur in aktivem Kaninchenserum:
1. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II. 1. Bouillonpassage der Kultur in aktivem Kaninchenserum:
1. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm III. 1. Agarpassage der Kultur in aktivem Kaninchenserum:
1. 43·2 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 600 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. 28·7 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 350 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm IV, Bouillonkultur des Ausgangsstammes:
1. 0·19 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. 2 Kolonien in der Platte.
5. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm V, Agarkultur des Ausgangsstammes:
1. 0·31 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 60 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Steril.
5. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 60 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrollen a und b: Steril.



Resultat: Während die einmalige Überführung des kaninchenserumfesten Stammes (49. Passage) in Bouillon keine Veränderung der Bakterizidiefestigkeit gegen aktives Kaninchen- und Menschenserum bewirkt, verliert der gleiche Stamm nach 24 stündigem Wachstum auf Agar bereits einen beträchtlichen Teil seiner Festigkeit. Die erste Agarkultur des kaninchenserumfesten Stammes weist im Gegensatz zur ersten Bouillonpassage des festen Stammes nur noch einen mäßigen Prozentsatz von bakterizidiefesten Typhusbazillen auf.

Wird der gegen Kaninchenserum bakterizidiefeste Stamm in zahlreichen Passagen durch Bouillon und Agar weitergeführt, ohne nochmals mit aktivem Kaninchenserum in Kontakt zu treten, so geht er schließlich auch in Bouillon seiner Festigkeit größtenteils verlustig, allerdings reichlich später als in den zu gleicher Zeit angelegten Agarkulturen. Der folgende Versuch bietet einen Beleg für dieses Verhalten.

Tabelle XIX (27. 8. 1916).

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Kultur in aktivem Kaninchennormalserum, 68 Passagen in aktivem Kaninchennormalserum gezüchtet.
II. Bouillonkultur des Ausgangsstammes 261.
III. Kultur in aktivem Kaninchenserum, 58 Passagen in aktivem Kaninchennormalserum, dann 10 Passagen in Bouillon gezüchtet.
IV. Kultur in aktivem Kaninchennormalserum, 58 Passagen in aktivem Kaninchennormalserum, dann 10 Passagen auf Agar gezüchtet.
V. Kultur in aktivem Kaninchennormalserum, 48 Passagen in aktivem Kaninchennormalserum, dann 20 Passagen in Bouillon gezüchtet.
VI. Kultur in aktivem Kaninchennormalserum, 48 Passagen in aktivem Kaninchennormalserum, dann 20 Passagen auf Agar gezüchtet.

Die Stämme werden geprüft gegen

1. aktives normales Kaninchenserum,
2. inaktives normales Kaninchenserum,
3. aktives Menschenserum,
4. inaktives Menschenserum.

Versuchsanordnung wie in Tab. XVIII.

Plattenauszählung am 28. 8. 1916.

Stamm I, Kultur in aktivem Kaninchenserum:

1. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Bouillonkultur des Ausgangsstammes 261:
1. 0·12 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. 0·04 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm III, 10. Bouillonpassage der Kultur in aktivem Kaninchenserum:
1. 46·8 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 600 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. 33·4 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm IV, 10. Agarpassage der Kultur in aktivem Kaninchenserum:
1. 2·7 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. 1·1 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm V, 20. Bouillonpassage der Kultur in aktivem Kaninchenserum:
1. 29·6 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 600 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. 4·5 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm VI, 20. Agarpassage der Kultur in aktivem Kaninchenserum:
1. 1·3 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. 0·27 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrollen a und b wie bei Tab. XVIII: Steril.

Wie aus diesem Versuche hervorgeht, hat der gegen aktives Kaninchenserum bakterizidiefeste Typhusstamm nach 10 Bouillonpassagen bereits einen erheblichen Teil seiner Festigkeit eingebüßt. Immerhin tritt die Bakterizidiefestigkeit im Vergleich zur Serumempfindlichkeit des Ausgangsstammes noch deutlich in die Erscheinung. Sie nimmt, wie das Verhalten der 20. Bouillonpassage beweist, nach weiteren 10 Passagen in Bouillon zwar weiter ab, bleibt aber auch noch in der 20. Bouillonpassage deutlich



ausgeprägt. Demgegenüber vollzieht sich der Rückschlag des bakterizidiefesten Stammes zur früheren Serumempfindlichkeit in den Agarpassagen schneller und vollkommener. Aber auch in der 20. Passage auf Agar bleibt doch die einstmalige Bakterizidiefestigkeit des Stammes rudimentär angedeutet, indem die Einsaat der Agarpassage durch aktives Kaninchennormalserum etwa hundertfach, die Einsaat des Ausgangsstammes etwa tausendfach abgetötet wird. Mit der Abnahme der Bakterizidiefestigkeit gegen aktives Kaninchenserum geht auch eine Zunahme der Empfindlichkeit der Passagenstämme gegen aktives Menschenserum parallel. Die Rückbildung der Festigkeit gegen heterologes Serum unterliegt somit ähnlichen Gesetzmäßigkeiten wie die Bakterizidiefestigkeit gegenüber homologem Serum. Dieses wichtige Moment des raschen Rückganges der Bakterizidiefestigkeit des Typhusbacillus auf festen Nährböden erfordert naturgemäß bei allen Untersuchungen über die Bakterizidiefestigkeit des Typhusbacillus sorgfältige Beachtung, und die Vernachlässigung dieses Phänomens kann, wie auch Braun und Feiler hervorheben, die Quelle wichtiger methodischer Fehler bilden. Wir kommen auf diese Beziehungen weiter unten bei unseren Versuchen über die Bedeutung der Bakterizidiefestigkeit des Typhusbacillus während des Abdominaltyphus beim Menschen nochmals zurück.

## VII.
## Methodologische Bemerkungen zur experimentellen Festigung der Typhusbazillen gegen aktives Kaninchenserum.

Der Eintritt der Bakterizidiefestigkeit gegen aktives Kaninchenserum kann durch stärkere Beimengungen von Hämoglobin zum aktiven Kaninchenserum beträchtlich verzögert werden. Wir sind diesem Einfluß des Hämoglobins auf die Ausbildung der Bakterizidiefestigkeit in besonderen Versuchen nachgegangen und haben hierbei folgendes festgestellt:

Tabelle XX (24. 6. 1916).

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Bouillonkultur des Ausgangsstammes F.

II. Kultur in aktivem Kaninchennormalserum, 6 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtet.

III. Kultur in aktivem Kaninchennormalserum, 6 Passagen in aktivem, stark hämoglobinhaltigem Kaninchenserum gezüchtet.

Während Stamm II in 1 ccm aktivem Kaninchenserum, dem 0·1 ccm Aq. dest. zugefügt ist, gezüchtet wird, wird Stamm III durch 1 ccm aktiven Kaninchenserums des gleichen Tieres bei Zusatz von 0·1 ccm Hämoglobinlösung fortgeführt. Die Hämoglobinlösung wurde durch Zusatz gerade lösender



Mengen von Aq. dest. zum Blutkörperchensediment im Zentrifugenröhrchen hergestellt.

Die Stämme werden geprüft gegen:

1. aktives Kaninchennormalserum,
2. inaktives Kaninchennormalserum

in folgender Weise:

Je $0 \cdot 1^1/_{50}$ ccm jeder Kultur, mit 0·85 prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in:

1. 1 ccm aktives Kaninchennormalserum,
2. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,
3. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum.

Kontrolle: 1 ccm aktives Kaninchennormalserum (unbeimpft).

Röhrchen 3 wird zur Bestimmung der Einsaat sofort zur Platte ausgegossen, die übrigen Röhrchen nach 4 Stunden bei 37°.

Plattenauszählung am 25. 6. 1916.

Stamm I, Ausgangsstamm, Bouillonkultur:

1. 0·04 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 80 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Kultur in aktivem Kaninchenserum (hämoglobinfrei):

1. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 50 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm III, Kultur in aktivem Kaninchenserum (hämoglobinhaltig):

1. 5·2 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 60 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrolle: steril.

Es zeigt dieser Versuch, daß die Anwesenheit größerer Mengen von Hämoglobin im aktiven Kaninchenserum der Ausbildung einer maximalen Bakterizidiefestigkeit des Typhusbacillus hinderlich ist. Die in hämoglobinfreiem aktiven Kaninchenserum gezüchtete Kultur ist nach 6 Passagen bakterizidiefest, dagegen wird die während des gleichen Zeitraumes durch hämoglobinhaltiges aktives Kaninchenserum hindurchgeführte Kultur noch beträchtlich durch aktives Kaninchenserum abgetötet. Ein mäßiger Grad von Festigkeit macht sich zweifellos auch bei dem im hämoglobinhaltigen Serum gezüchteten Stamm im Vergleich zu der Empfindlichkeit des Ausgangsstammes bemerkbar; er bleibt aber trotz der 6 Passagen durch aktives Kaninchenserum doch wesentlich hinter dem maximalen Festigkeitsgrad zurück, den Typhusbazillen entsprechend unseren früheren geschilderten Versuchen (vgl. Tabb. III bis VI) im hämoglobinarmen Kaninchenserum bereits nach 3 bis 4 Passagen erlangen.

In einer Reihe anderer Experimente sind wir dann der weiteren Frage nachgegangen, ob ein starker Hämoglobingehalt des Serums auch auf die bereits zur Ausbildung gelangte Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen von Einfluß sei. Eine Klärung dieser Frage erschien uns von methodischen und theoretischen Gesichtspunkten gleich wünschenswert. Für den Fall einer Beeinflußbarkeit der erworbenen Bakterizidiefestigkeit durch hämoglobinämisches Serum war, da bei der öfters spontanen Hämolysierbarkeit des Kaninchenblutes (besonders in den Frühlingsmonaten: Cohn, eigene Erfahrungen) eine Hämoglobinbeimengung zum Serum zuweilen unvermeidlich ist, mit Schwankungen der Bakterizidiefestigkeit zu rechnen, die Gegenstand einer ununterbrochenen Kontrolle beim Arbeiten mit serumfesten Typhusbazillen sein muß. Es ergab sich ferner für diesen Fall die wichtige theoretische Schlußfolgerung, daß dem in vivo stattfindenden Blutzerfall eine antagonistische Wirkung gegenüber den Anpassungserscheinungen der Typhusbazillen an die bakteriziden Funktionen des Blutserums möglicherweise zukommen konnte. Der Ausfall des folgenden Versuches zeigt, daß nach Eintritt der maximalen Bakterizidiefestigkeit der Typhusbacillus auch in stark hämoglobinämischem aktiven Kaninchenserum seine Festigkeit durch zahlreiche Passagen hindurch bewahrt.

Tabelle XXI (12. 10. 1916).

Verliert der gegen aktives Kaninchenserum bakterizidiefeste Typhusbacillus durch mehrere Passagen in hämoglobinreichem aktiven Kaninchenserum seine Bakterizidiefestigkeit?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Kultur in aktivem Kaninchenserum, 15 Passagen in aktivem Kaninchennormalserum gezüchtet.

II. Kultur in aktivem Kaninchenserum, 5 Passagen in aktivem Kaninchennormalserum, hierauf 10 Passagen in aktivem, stark hämoglobinhaltigem (durch frühzeitiges Zerreißen des Blutkuchens) Kaninchennormalserum gezüchtet.

III. Bouillonkultur des Ausgangsstammes 261.

Die Stämme werden geprüft gegen:

1. aktives Kaninchennormalserum,
2. inaktives Kaninchennormalserum,
3. aktives Menschenserum,
4. inaktives Menschenserum

in folgender Weise:

Je $0 \cdot 1^{1}/_{50}$ ccm jeder Kultur, mit 0·85 prozentiger Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in:

1. 1 ccm aktives Kaninchennormalserum,
2. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,



3. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum,
4. 1 ccm aktives Menschenserum,
5. 1 ccm inaktives Menschenserum,
6. 1 ccm inaktives Menschenserum.

Kontrollen: a) 1 ccm aktives Kaninchennormalserum } unbeimpft.
b) 1 ccm aktives Menschenserum }

Röhrchen 3 und 6 werden mit je 10 ccm Agar sofort zur Platte ausgegossen, die übrigen Röhrchen nach 4stündiger Bebrütung bei 37°.

Plattenauszählung am 13. 10. 1916.

Stamm I, Kultur in aktivem Kaninchenserum (hämoglobinarm):
1. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Kultur in aktivem Kaninchenserum (hämoglobinreich):
1. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm III, Ausgangsstamm 261, Bouillonkultur:
1. 0·64 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 1000 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Steril.
5. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
6. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrollen a und b: Steril.

Resultat: Auch nach 10 Passagen durch stark hämoglobinämisches aktives Kaninchenserum hat der bakterizidiefeste Typhusstamm seine einmal erworbene Bakterizidiefestigkeit ungemindert behalten. Der Hämoglobingehalt des aktiven Serums ist somit nur für die Ausbildung der Bakterizidiefestigkeit von Belang, auf die bereits eingetretene Festigkeit ist er ohne Einfluß.

## VIII.

## Untersuchungen über den Rezeptorenapparat bakterizidiefester Typhusbazillen.

Nach Erledigung der in den vorangehenden Abschnitten behandelten Fragen sind wir im Verlauf unserer Untersuchungen zum Studium des Rezeptorenapparates der gegen aktives Kaninchenserum gefestigten Typhusbazillen übergegangen. Es ergab sich vor allem die Frage, ob die der



Serumfestigkeit der Typhusbazillen zugrunde liegenden biologischen Vorgänge den Prozessen der Serumfestigkeit der Trypanosomen wesensgleich sind, die ebenfalls in vitro unter dem Kontakt mit trypanoziden Immunserum rasch unempfindlich gegen die trypanoziden Funktionen des Immunserums werden können [Ehrlich (30, 31), Rosenthal (32)], mit anderen Worten, ob auch die Serumfestigkeit der Typhusbazillen ähnlich wie die der Trypanosomen mit der Bildung eines vom Ausgangsstamm wesensdifferenten Rezeptorengerüstes einhergehe. Diese Fragestellung ist bisher nur von Braun und Feiler in eingehenden Versuchen bearbeitet worden. Sie gelangen zu dem Ergebnis, daß bei der Immunisierung von Kaninchen mit serumfesten Typhusbazillen eine Neubildung von spezifischen bakteriziden Ambozeptoren, die gegen den serumfesten Stamm gerichtet sind, nicht erfolgt, und daß der bakterizidiefeste Stamm die antigenen Eigenschaften des Ausgangsstammes bewahrt.

Wir haben in gleicher Weise das Verhalten serumempfindlicher und serumfester Typhusbazillen gegenüber Immunseris untersucht, die durch Immunisierung von Kaninchen mit dem serumempfindlichen Ausgangsstamm und dem von ihm abgeleiteten serumfesten Stamm erzeugt waren. Zur Erzeugung des Kaninchenimmunserums „Fester Stamm 261" wurden Serumpassagen des bakterizidiefesten Stammes verwendet, deren Festigkeit im bakteriziden Plattenversuch kontrolliert wurde, und die vor der Injektion durch einstündiges Erwärmen auf 55° im Wasserbade abgetötet wurden. Wir erhielten auf diese Weise ein Kaninchenimmunserum „Fester Stamm 261", das im einzelnen folgendermaßen gewonnen wurde:

Silbergraues Kaninchen erhält intraperitoneal (m:

| | | |
|---|---|---|
| 18. 7. 16 | 2 ccm Kultur in aktivem Kaninchenserum | (30. Passage) |
| 25. 7. 16 | ebenso | (37. „ ) |
| 1. 8. 19 | ebenso | (44. „ ) |
| 8. 8. 16 | ebenso | (50. „ ) |
| 14. 8. 16 | Widal 1:12800 | |
| 17. 8. 16 | entblutet. | |

In entsprechender Weise wurde das Kaninchenimmunserum „Ausgangsstamm 261" durch Vaccinierung mit steigenden Mengen von bei 55° abgetöteten Bazillen des Ausgangsstammes 261 hergestellt.

Der bakterizide Titer beider Immunsera wurde hierauf im bakteriziden Plattenversuch dem Ausgangsstamm 261 und Serumkulturen des bakterizidiefesten Stammes gegenüber geprüft.

Tabelle XXII (19. 8. 1916).

Werden bei aktiver Immunisierung eines Kaninchens mit dem serumempfindlichen Typhusausgangsstamm auch bakterizide Ambozeptoren gegen den bakterizidiefesten Stamm gebildet?



Folgende Stämme werden untersucht:

I. Kultur in aktivem Kaninchennormalserum, durch 60 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtet.

II. Bouillonkultur des Ausgangsstammes 261.

Beide Stämme werden gegen fallende Mengen des inaktivierten Kaninchenimmunserums „Ausgangsstamm 261" geprüft.

Die Reaktivierung des Kaninchenimmunserums erfolgt durch $0 \cdot 5\,^1/_{10}$ aktives frisches steriles Meerschweinchenserum. Die folgenden Röhrchen werden mit $0 \cdot 1\,^1/_{50}$ ccm jeder Kultur beimpft. Röhrchen 8 und VIII werden sofort zur Bestimmung der Einsaat, die übrigen Röhrchen nach 4stündiger Bebrütung bei 37° zu Platten ausgegossen.

Verhalten des bakterizidiefesten Stammes gegen Kaninchenimmunserum „Ausgangsstamm 261".

| Röhrchen | Verdünnungen des Immunserums | Akt. Meerschweinchenserum | 0·85 proz. NaCl-Lösung | Bouillon: Tropfen | Ergebnis |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | $1 \cdot 0\,^1/_{10}$ | $0 \cdot 5\,^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | etwa 500 Kol. |
| 2. | $1 \cdot 0\,^1/_{1000}$ | $0 \cdot 5\,^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | „ 500 „ |
| 3. | $1 \cdot 0\,^1/_{1000}$ | $0 \cdot 5\,^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | „ 500 „ |
| 4. | $1 \cdot 0\,^1/_{10000}$ | $0 \cdot 5\,^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | „ 500 „ |
| 5. | — | — | 0·9 | 3 | „ 600 „ |
| 6. | — | $0 \cdot 5\,^1/_{10}$ | 1·4 | 3 | „ 500 „ |
| 7. | $1 \cdot 0\,^1/_{10}$ | — | 0·9 | 3 | „ 500 „ |
| 8. | — | — | 1·9 | 3 | „ 150 „ |

Verhalten des Ausgangsstammes 261 gegen Kaninchenimmunserum „Ausgangsstamm 261".

| Röhrchen | Verdünnungen des Immunserums | Akt. Meerschweinchenserum | 0·85 proz. NaCl-Lösung | Bouillon: Tropfen | Ergebnis |
|---|---|---|---|---|---|
| I. | $1 \cdot 0\,^1/_{10}$ | $0 \cdot 5\,^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | 0·08 Kol. |
| II. | $1 \cdot 0\,^1/_{100}$ | $0 \cdot 5\,^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | 0·12 „ |
| III. | $1 \cdot 0\,^1/_{1000}$ | $0 \cdot 5\,^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | 0·16 „ |
| IV. | $1 \cdot 0\,^1/_{10000}$ | $0 \cdot 5\,^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | 0·16 „ |
| V. | — | — | 1·9 | 3 | etwa 150 „ |
| VI. | — | $0 \cdot 5\,^1/_{10}$ | 1·4 | 3 | 15·2 „ |
| VII. | $1 \cdot 0\,^1/_{10}$ | — | 0·9 | 3 | etwa 100 „ |
| VIII. | — | — | 1·9 | 3 | „ 60 „ |

Kontrollen: a) $1 \cdot 0\,^1/_{10}$ Kaninchenimmunserum „Ausgangsstamm 261" + 1·9 Kochsalzlösung + 3 Tropfen Bouillon,

b) $0 \cdot 5\,^1/_{10}$ aktives Meerschweinchenserum + 1·4 Kochsalzlösung + 3 Tropfen Bouillon.

Beide Kontrollen werden nach 4stündiger Bebrütung bei 37° unbeimpft zur Platte ausgegossen: Steril.



Resultat: Der bakterizidiefeste Typhusstamm (60. Passage) erweist sich gegenüber dem mit seinem Ausgangsstamm erzeugten Kaninchenimmunserum maximal fest.

Auch die bereits oben beschriebene Bakterizidiefestigkeit des kaninchenserumfesten Stammes gegen heterologes Serum tritt hier von neuem in die Erscheinung bei Röhrchen 6, während der Ausgangsstamm durch $0\cdot5\ {}^1/_{10}$ aktives Meerschweinchenserum bei Röhrchen VI stark bakterizid beeinflußt wird. Die deutliche Bakterizidie des Immunserums gegenüber dem Ausgangsstamm bei einer Verdünnung von $1\cdot0\ {}^1/_{10000}$ kennzeichnet das Immunserum „Ausgangsstamm 261" als gut wirksam.

## Tabelle XXIII (19. 8. 1916).

Werden bei aktiver Immunisierung mit bakterizidiefesten Typhusbazillen bakterizide Ambozeptoren gegen den Ausgangsstamm gebildet?

Die 24stündige Bouillonkultur des Ausgangsstammes 261 wird geprüft gegen:

I. Kaninchennormalserum, dem Kaninchen vor der Immunisierung entnommen und nach Inaktivierung steril bis zum Versuchsdatum aufbewahrt.

II. Kaninchenimmunserum „Fester Stamm 261".

Absteigende Mengen beider Sera, mit $0\cdot5\ {}^1/_{10}$ aktivem Meerschweinchenserum reaktiviert, werden beimpft mit $0\cdot1\ {}^1/_{50}$ ccm der Bouillonkultur.

Bebrütung sämtlicher Röhrchen 3 Stunden bei 37°, nur Röhrchen 8 wird sofort zur Bestimmung der Einsaat, mit 10 ccm Agar vermischt, zur Platte ausgegossen.

Verhalten des Ausgangsstammes gegen Kaninchennormalserum (vor der Immunisierung).

| Röhrchen | Verdünnungen des Immunserums | Akt. Meerschweinchenserum | 0·85 proz. NaCl-Lösung | Bouillon in Tropfen | Ergebnis |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | $1\cdot0\ {}^1/_{10}$ | $0\cdot5\ {}^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | 0·16 Kol. |
| 2. | $1\cdot0\ {}^1/_{100}$ | $0\cdot5\ {}^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | 0·27 „ |
| 3. | $1\cdot0\ {}^1/_{1000}$ | $0\cdot5\ {}^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | 15·1 „ |
| 4. | $1\cdot0\ {}^1/_{10000}$ | $0\cdot5\ {}^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | 14·3 „ |
| 5. | — | — | 1·9 | 3 | etwa 150 „ |
| 6. | — | $0\cdot5\ {}^1/_{10}$ | 1·4 | 3 | 13·6 „ |
| 7. | $1\cdot0\ {}^1/_{10}$ | — | 0·9 | 3 | etwa 100 „ |
| 8. | — | — | 1·9 | 3 | „ 60 „ |






Verhalten des Ausgangsstammes gegen Kaninchenimmunserum „Fester Stamm 261".

| Röhrchen | Verdünnungen des Immunserums | Akt. Meerschweinchenserum | 0·85 proz. NaCl-Lösung | Bouillon in Tropfen | Ergebnis |
|---|---|---|---|---|---|
| I. | 1·0 $^1/_{10}$ | 0·5 $^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | 0·01 Kol. |
| II. | 1·0 $^1/_{100}$ | 0·5 $^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | steril |
| III. | 1·0 $^1/_{1000}$ | 0·5 $^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | steril |
| IV. | 1·0 $^1/_{10000}$ | 0·5 $^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | steril |
| V. | — | — | 1·9 | 3 | etwa 150 „ |
| VI. | — | 0·5 $^1/_{10}$ | 1·4 | 3 | 14·7 „ |
| VII. | 1·0 $^1/_{10}$ | — | 0·9 | 3 | etwa 100 „ |
| VIII. | — | — | 1·9 | 3 | etwa 60 „ |

Kontrollen: a) 1·0 $^1/_{10}$ Kaninchennormalserum + 1·9 Kochsalzlösung + 3 Tropfen Bouillon.

b) 1·0 $^1/_{10}$ Kaninchenimmunserum „Fester Stamm 261" + 1·9 Kochsalzlösung + 3 Tropfen Bouillon.

c) 0·5 $^1/_{10}$ aktives Meerschweinchenserum + 1·9 Kochsalzlösung + 3 Tropfen Bouillon.

Sämtliche Kontrollen werden nach 3stündiger Bebrütung bei 37° unbeimpft zur Platte ausgegossen: Steril.

Der Ausfall dieses Versuches beweist eine Neubildung von bakteriziden Immunsubstanzen unter dem Einfluß der Behandlung mit serumfesten Typhusbazillen. Die bakterizide Titergrenze des reaktivierten Normalserums, das, wie erwähnt, dem Kaninchen vor Beginn der Immunisierung entnommen wurde, liegt bei einer Verdünnung von 1·0 $^1/_{100}$. Die bei den höheren Verdünnungen sich bemerkbar machenden bakteriziden Prozesse sind nicht mehr eine Funktion der Bakterizidie des Kaninchennormalserums, sondern, wie aus den Röhrchen 6 und 7, VI und VII ersichtlich ist, des als Komplement verwendeten aktiven Meerschweinchenserums, das für sich allein schon die Zahl der eingeimpften Keime von 60 Kolonien auf 13·6 bzw. 14·7 Kolonien im Gesichtsfeld verringert. Nach Beendigung der Immunisierung mit dem bakterizidiefesten Stamm steigert sich die bakterizide Kraft des Kaninchenserums ganz bedeutend, und auch bei der in Röhrchen IV angewendeten Höchstverdünnung von 1·0 $^1/_{10000}$ ist die Titergrenze noch nicht erreicht; diese die Titergrenze des Normalserums um das Hundertfache übersteigende Verdünnung vermag noch eine völlige Abtötung der eingeimpften Bakterien herbeizuführen. Es ergibt sich somit aus diesem Versuche die Tatsache, daß die **Immunisierung von Kaninchen mit bakterizidiefesten Typhusbazillen zur Bildung bakterizider Ambozeptoren führt, die auf den serumempfindlichen Typhusausgangsstamm eingestellt sind.**



Tabelle XXIV (19. 8. 1916).

**Werden bei aktiver Immunisierung eines Kaninchens mit bakterizidiefesten Typhusbazillen wirksame bakterizide Ambozeptoren gegen den als Antigen dienenden bakterizidiefesten Typhusstamm gebildet?**

Die 60. Kultur in aktivem Kaninchennormalserum des bakterizidiefesten Stammes 261 wird geprüft gegen absteigende Mengen des Kaninchenimmunserums „Fester Stamm 261" (vergl. dessen Wirksamkeit Tab. XXIII).

Das Immunserum wird durch 0·5 $^1/_{10}$ aktives Meerschweinchenserum reaktiviert und mit 0·1 $^1/_{50}$ ccm der Serumkultur geimpft.

Röhrchen 8 wird sofort zur Bestimmung der Einsaat, die übrigen Röhrchen nach 3 Stunden bei 37° mit 10 ccm Agar vermischt zur Platte ausgegossen.

Plattenauszählung am 20. 8. 1916.

| Röhrchen | Verdünnungen des Immunserums | Akt. Meerschweinchenserum | 0·85 proz. NaCl-Lösung | Bouillon in Tropfen | Ergebnis |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 1·0 $^1/_{10}$ | 0·5 $^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | etwa 400 Kol. |
| 2. | 1·0 $^1/_{100}$ | 0·5 $^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | „ 400 „ |
| 3. | 1·0 $^1/_{1000}$ | 0·5 $^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | „ 400 „ |
| 4. | 1·0 $^1/_{10000}$ | 0·5 $^1/_{10}$ | 0·4 | 3 | „ 400 „ |
| 5. | — | — | 1·9 | 3 | „ 400 „ |
| 6. | — | — | 1·4 | 3 | „ 400 „ |
| 7. | 1·0 $^1/_{10}$ | — | 0·9 | 3 | „ 400 „ |
| 8. | — | — | 1·9 | 3 | „ 150 „ |

Kontrollen: a) 1·0 $^1/_{10}$ Kaninchenimmunserum „Fester Stamm 261" + 1·9 Kochsalzlösung + 3 Tropfen Bouillon.
b) 0·5 $^1/_{10}$ Meerschweinchenserum + 1·9 Kochsalzlösung + 3 Tropfen Bouillon.

Beide Kontrollen werden nach 3stündiger Bebrütung bei 37° unbeimpft mit der Platte ausgegossen: Steril.

**Resultat:** Der bakterizidiefeste Typhusstamm ist auch gegenüber einem mit bakterizidiefesten Typhusbazillen erzeugten Immunserum maximal bakterizidiefest.

Wenn wir im Sinne der Ehrlichschen Theorie aus gleichen immunisatorisch ausgelösten Ambozeptoren eine Rezeptorengemeinschaft, aus wesensdifferenten eine Verschiedenheit des Rezeptorengerüstes erschließen, müssen wir, da die durch Behandlung mit serumfesten Typhusbazillen erzeugten Ambozeptoren auch auf normale Typhusbazillen bakterizid zu wirken vermögen, somit den serumfesten Typhusbazillen Rezeptoren zuschreiben, die mit denen der Ausgangsindividuen identisch sind.

Mit diesem Schluß, daß der bakterizidiefeste Typhusstamm noch über den gleichen Rezeptorenapparat wie sein Ausgangsstamm





verfügt, ergeben sich prinzipielle Unterschiede zur Serumfestigkeit der Trypanosomen. Die biologische Umwandlung des Trypanosomenausgangsstammes zum trypanozidiefesten Rezidivstamm, wie sie sich im Reagenzglase bei Kontakt der Trypanosomen mit spezifischem Immunserum oder in vivo unter dem Einflusse der nach der Heilung entstehenden spezifischen Immunkörper vollzieht, geht mit dem Verlust des ursprünglichen Rezeptorengerüstes und mit der Bildung neuartiger Rezeptoren einher. Die Trypanozidiefestigkeit beruht somit auf einer Konstitutionsänderung der Parasiten; der serumfeste Typhusbacillus bewahrt dagegen die Struktur der normalempfindlichen Ausgangsindividuen.

## IX.

### Ist die gegen aktives Kaninchenserum in vitro erworbene Festigkeit der Typhusbazillen elektiv gegen die bakteriziden Serumsubstanzen gerichtet oder stellt sie nur eine Teilerscheinung einer allgemeinen Antikörperfestigkeit dar?

Wir haben in den vorangegangenen Experimenten das Verhalten unserer gegen aktives Kaninchenserum gefestigten Typhusbazillen bisher nur isoliert gegen eine bestimmte Serumfunktion, nämlich gegen die bakteriziden Substanzen, untersucht. Wir haben hierbei in Übereinstimmung mit Braun und Feiler festgestellt, daß die Bakterizidiefestigkeit des Typhusbacillus nicht mit einem Verlust des ursprünglichen Rezeptorenapparates einhergeht. Die weitere Frage ergibt sich, ob diese gegen aktives Kaninchenserum erworbene Festigkeit elektiv gegen die bakteriziden Serumsubstanzen gerichtet ist, also eine spezifische Festigkeit gegen bakteriolytische Ambozeptoren darstellt oder auch gegenüber der Einwirkung anderer spezifischer Antikörper (Opsonine, Bakteriotropine, Agglutinine) in die Erscheinung tritt. Nur in dem letzteren Falle dürfen wir eigentlich berechtigterweise von einer Serumfestigkeit des Typhusbacillus sprechen. Eine Entscheidung dieser Frage läßt der Plattenversuch nicht zu, der sich mit dem Nachweis bakterizider Serumwirkungen begrenzt.

Wir sind daher ähnlich wie Braun und Feiler zu Schutzversuchen am Tier übergegangen, in welchen, wie wir vor allem aus den Untersuchungen Neufelds und seiner Schule wissen, neben den bakteriziden Ambozeptoren auch phagozytäre Serumstoffe in Wirksamkeit treten. Da der von uns hauptsächlich benutzte Stamm 261 auch in der Kaninchenserumkultur sich als fast avirulent für Meerschweinchen erwies, und auch aus äußeren Gründen die Beschaffung und Erhaltung einer größeren Zahl



von Meerschweinchen uns nicht möglich war, haben wir die Schutzversuche ausschließlich an weißen Mäusen angestellt.

Die aktive Immunisierung erfolgte mit einem Vakzin, das durch 1stündiges Erhitzen der 24stündigen Kulturen auf 55° im Wasserbade hergestellt wurde. Je 8 Mäuse wurden mit dem Vakzin des Ausgangsstammes und des bakterizidiefesten Stammes immunisiert. Die Impfmenge des Ausgangsstammvakzins betrug $^1/_{100}$ bis $^1/_{50}$ Agarkulturaufschwemmung, die des Vakzins des bakterizidiefesten Stammes 0·5 $^1/_{10}$ bis 0·5$^1/_5$ ccm der Kultur in aktivem Kaninchenserum. Als Infektionskontrolltiere dienten unbehandelte Mäuse, die gleichzeitig mit den früher immunisierten Tieren mit der vorher festgestellten 5- bis 10fachen tödlichen Dosis des Ausgangsstammes bzw. des bakterizidiefesten Stammes intraperitoneal gespritzt wurden. Das Ergebnis der Versuche ist in den folgenden Tabellen wiedergegeben.

Tabelle XXV (23. 9. 1916).

Vermag die prophylaktische Impfung mit bakterizidiefesten Typhusbazillen gegen eine nachträgliche Infektion mit dem serumempfindlichen Ausgangsstamm zu schützen?

8 Mäuse werden mit dem Vakzin des bakterizidiefesten Stammes immunisiert. Sie erhalten

am 4. 8. 1916 0·5 $^1/_{10}$ subkutan
„ 10. 8. 1916 0·5 $^1/_{10}$ „
„ 17. 8. 1916 0·5 $^1/_{10}$ „
„ 23. 8. 1916 0·5 $^1/_5$ „

Verlauf des Versuches.

| Maus | Verlauf | | | Endergebnis |
|---|---|---|---|---|
| | nach 3^h | nach 12^h | nach 24^h | |
| 1 | krank | ziemlich munter | munter | überlebt |
| 2 | schwer krank | sterbend | tot | aus der Peritonealflüssigkeit Typhusbazillen züchtbar |
| 3 | krank | erholt sich | munter | überlebt |
| 4 | schwer krank | fast munter | munter | überlebt |
| 5 | krank | ziemlich munter | munter | überlebt |
| 6 | krank | erholt sich | fast munter | überlebt |
| 7 | krank | munter | munter | überlebt |
| 8 | krank | erholt sich | munter | überlebt |
| Infektionskontrolltiere (unbehandelt) | | | | |
| 9 | schwer krank | tot | — | Im Peritoneum massenhaft Typhusbazillen |
| 10 | schwer krank | nach 9 Std. tot | — | |



Das Gewicht der Mäuse betrug etwa 18 bis 20 g.

Sie wurden mit 0·3 ccm 24stündiger Bouillonkultur (5fach l. D.) intraperitoneal nachinfiziert.

Die aktive Immunisierung mit dem bakterizidiefesten Stamm schützt die geimpften Tiere vor einer bei unbehandelten Tieren tödlichen Infektion mit dem serumempfindlichen Typhusausgangsstamm. Nur bei einem Tier versagt die Schutzimpfung: Maus 2 geht — gegenüber den unbehandelten Infektionskontrolltieren verspätet — an der Infektion zugrunde. Es unterscheidet sich somit der bakterizidiefeste Typhusstamm in seinen antigenen Fähigkeiten nicht von seinem serumempfindlichen Ausgangsstamm (vgl. das entsprechende mit der Plattenmethode gewonnene Resultat der Tab. XXIII).

## Tabelle XXVI (16. 8. 1916).

Vermag die prophylaktische Impfung mit dem Typhusausgangsstamm gegen eine nachträgliche Infektion mit dem bakterizidiefesten Stamm zu schützen?

8 Mäuse werden mit dem Vakzin des Ausgangsstammes 261 immunisiert. Sie erhalten

am 14. 7. 1916 $^1/_{100}$ Agarkultur subkutan
,, 21. 7. 1916 $^1/_{100}$ ,, ,,
,, 27. 7. 1916 $^1/_{50}$ ,, ,,
,, 4. 8. 1916 $^1/_{50}$ ,, ,,

Das Gewicht der Mäuse betrug etwa 18 bis 20 g.

Sie werden mit 0·2 ccm Kultur in aktivem Kaninchenserum (58. Passage) intraperitoneal nachinfiziert (5fach l. D.).

### Verlauf des Versuches.

| Maus | Endergebnis |
|---|---|
| 1. | Überlebt. |
| 2. | Überlebt. |
| 3. | Überlebt. |
| 4. | Tot nach 20 Stunden. Im Peritoneum Typhusbazillen kulturell nicht nachweisbar. |
| 5. | Überlebt. |
| 6. | Überlebt. |
| 7. | Nach 24 Stunden noch krank, überlebt. |
| 8. | Überlebt. |
| | **Infektionskontrolltiere (unbehandelt).** |
| 9. | Nach 12 Stunden tot. } Im Peritoneum massenhaft Typhusbazillen. |
| 10. | Nach 12 Stunden tot. } |

Die prophylaktische Impfung mit dem Ausgangsstamm schützt die geimpften Tiere vor einer bei unbehandelten Tieren tödlich verlaufenden Infektion mit bakterizidiefesten Typhusbazillen. Von den 8 immunisierten Mäusen überleben sämtliche, mit Ausnahme von Maus 4, die, wie der Ausfall der bakteriologischen Untersuchung zeigt, offenbar an Endotoxinvergiftung zugrunde geht.

Die in vitro gegen aktives Kaninchenserum erworbene Festigkeit stellt somit eine elektive Bakterizidiefestigkeit des Typhusbazillus dar, der im übrigen gegen andere bei der Immunisierung entstehende spezifische Typhusantikörper (Bakteriotropine) empfindlich bleibt. Mit dieser Feststellung stimmen auch die Beobachtungen über die im Peritoneum sich abspielenden Vorgänge überein: eine Bakteriolyse der intraperitoneal injizierten Bazillen bleibt fast vollkommen aus, noch nach einigen Stunden sind die Bazillen im Peritonealpunktat wenig verändert bei zunehmender Leukozytose sichtbar. Nach etwa 12 Stunden sieht man die Leukozyten in starker phagozytärer Tätigkeit begriffen, wobei die Menge der frei in der Peritonealflüssigkeit enthaltenen Bazillen beträchtlich abgenommen hat.

Nachdem wir in den Tab. XXIII und XXIV gesehen haben, daß die Bakterizidiefestigkeit des Typhusbacillus nicht mit einem Rezeptorenschwund einhergeht und vor allem gegen die bakteriolytischen Ambozeptoren, nicht oder nur wenig gegen andere spezifische Typhusantikörper gerichtet ist, war zu erwarten, daß eine prophylaktische Impfung mit dem bakterizidiefesten Stamm auch gegen die nachträgliche Infektion mit bakterizidiefesten Bazillen schützen würde. Den Versuchen stellen sich nicht unerhebliche Schwierigkeiten durch die Interferenz anaphylaktischer Prozesse entgegen, welche durch die wiederholte subkutane und schließlich intraperitoneale Injektion des serumhaltigen Vakzins ausgelöst werden. Immerhin sind diese experimentellen Schwierigkeiten bei der Maus wesentlich geringer als etwa bei den in gleicher Weise immunisierten Meerschweinchen.

Tabelle XXVII (15. 10. 1916).

Vermag die prophylaktische Impfung mit bakterizidiefesten Typhusbazillen gegen eine nachträgliche Infektion mit bakterizidiefesten Typhusbazillen zu schützen?

12 Mäuse werden mit dem Vakzin des bakterizidiefesten Stammes immunisiert. Sie erhalten

| | | | |
|---|---|---|---|
| am | 4. 8. 1916 | 0·5 $^1/_{10}$ | subkutan |
| ,, | 10. 8. 1916 | 0·5 $^1/_{10}$ | ,, |
| ,, | 17. 8. 1916 | 0·5 $^1/_{10}$ | ,, |
| ,, | 23. 8. 1916 | 0·5 $^1/_5$ | ,, |



Das Gewicht der Mäuse betrug etwa 18 bis 20 g. Von diesen Tieren sterben 6 nach der 3. bew. 4. Impfung unter kachektischen Erscheinungen.

Die überlebenden Tiere werden mit 1 ccm Kultur in aktivem Kaninchenserum (18. Passage des Stammes 261) intraperitoneal nachinfiziert.

Verlauf des Versuches.

| Maus | Endergebnis |
|---|---|
| 1. | Überlebt. |
| 2. | Überlebt. |
| 3. | Tot nach 3 Stunden. Im Peritoneum kulturell reichlich Typhusbazillen nachweisbar. |
| 4. | Überlebt. |
| 5. | Überlebt. |
| 6. | Tot nach 5 Stunden. Kulturell spärlich Typhusbazillen nachweisbar. |
| | Infektionskontrolltiere (unbehandelt). |
| 7. | Nach 16 Stunden tot. } Im Peritoneum massenhaft Typhusbazillen. |
| 8. | Nach 16 Stunden tot. } Im Peritoneum massenhaft Typhusbazillen. |

Die prophylaktische Impfung mit dem bakterizidiefesten Stamm schützt die geimpften Tiere vor einer bei unbehandelten Tieren tödlich verlaufenden Infektion mit bakterizidiefesten Bazillen. Von den 6 immunisierten Mäusen überleben 4; 2 gehen in den ersten Stunden nach der intraperitonealen Infektion mit Wahrscheinlichkeit an anaphylaktischen Prozessen zugrunde.

Es geht somit aus den Tierversuchen in Übereinstimmung mit dem bakteriziden Plattenversuch hervor, daß die Bakterizidiefestigkeit des Typhusbacillus gegen aktives Kaninchenserum nicht mit einem Rezeptorenschwund einhergeht, und daß der bakterizidiefeste Stamm die antigenen Fähigkeiten des Ausgangsstammes bewahrt. Dieser Befund deckt sich mit den Versuchen, die von Braun und Feiler angestellt worden sind. Weiter lehren diese Experimente, daß die in vitro erworbene Festigkeit der Typhusbazillen eine spezifische Bakterizidiefestigkeit darstellt, die maximal gegen die bakteriolytischen Ambozeptoren gerichtet ist, jedoch nicht auch eine entsprechende Festigkeit gegen andere spezifische Typhusantikörper, vor allem die phagozytären Serumkörper, umschließt.

Diese Tatsache kommt auch in dem Verhalten bakterizidiefester Typhusbazillen gegen agglutinierendes Immunserum zum Ausdruck: Der bakterizidiefeste Stamm wird von dem Immunserum des Ausgangsstammes bis zur Titergrenze agglutiniert, zeigt also bei maximaler Bakterizidiefestigkeit eine normale Agglutina-



bilität. Dabei ergeben sich interessante Differenzen zu dem in inaktivem Kaninchennormalserum und inaktivem Kaninchenimmunserum gezüchteten Stamm.

Tabelle XXVIII (24. 7. 1916).

Die Agglutinierbarkeit des in aktivem und inaktivem Kaninchennormalserum sowie in inaktivem Kaninchenimmunserum gezüchteten Typhusstammes F und des Ausgangsstammes F wird gegen ein mit dem Ausgangsstamm gewonnenes Kaninchenimmunserum geprüft.

Zur Untersuchung kommen folgende Stämme:

I. Kultur in aktivem Kaninchenserum, 24 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtet. Von der 12. Passage ab wurde nur jeden 2. Tag auf aktives Kaninchenserum überimpft.
B = 24 stündige Bouillonkultur,
A = 24 stündige Agarkultur.

II. Kultur in inaktivem Kaninchenserum, 24 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtet. Überimpfung wie bei I.
B = 24 stündige Bouillonkultur,
A = 24 stündige Agarkultur.

III. Kultur in inaktivem Kaninchenimmunserum, 21 Passagen in 0·9 ccm inaktivem Kaninchennormalserum + 0·1 ccm Kaninchenimmunserum gezüchtet.
B = 24 stündige Bouillonkultur,
A = 24 stündige Agarkultur.

IV. Ausgangsstamm F.
B = 24 stündige Bouillonkultur,
A = 24 stündige Agarkultur.

Als Immunserum dient ein mit dem Ausgangsstamm F hergestelltes Immunserum, das durch 3 malige intravenöse, in 1 wöchigen Abständen erfolgende Injektion von abgeschwemmter Agarkultur (1 Stunde bei 55$^0$ abgetötet) erzeugt war.

Die Agarkulturen werden mit 0·5 Prozent Phenol-Kochsalzlösung abgeschwemmt und auf den Trübungsgrad der Bouillonkultur verdünnt. Die Bouillonkultur wird durch entsprechenden Zusatz von Phenol abgetötet (1 Tropfen konzentriertes Phenol auf 10 ccm Bouillonkultur).

Der Ausfall des Versuches wird nach 2 Stunden bei 37$^0$ und dann nach weiteren 22 Stunden bei Zimmertemperatur abgelesen (siehe Tab. XXIX auf S. 442).

Es zeigen diese Versuche, daß der bakterizidiefeste Stamm von hochagglutinierendem Immunserum des Ausgangsstammes bis zur Titergrenze agglutiniert wird. Ein gewisser Unterschied in der Agglutinabilität zwischen beiden Stämmen macht sich aber doch bemerkbar, indem in den mittleren Konzentrationen die Ausfällung der Ausgangstyphusbazillen massiger und vollständiger erfolgt als beim bakterizidiefesten Stamm. Zeigt somit der gegen die bakterizide Serumwirkung maximal



## Tabelle XXIX.

Agglutinationsergebnis nach 2 Stunden bei 37°.

| Serumverdünnung | Stamm I | | Stamm II | | Stamm III | | Stamm IV | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | B | A | B | A | B | A | B | A |
| 1 : 200 | +++ | +++ | + | − | 0 | 0 | +++ | +++ |
| 1 : 400 | +++ | +++ | + | 0 | 0 | 0 | +++ | +−− |
| 1 : 800 | ++ | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 | +++ | +−− |
| 1 : 1600 | ++ | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 | +++ | +− |
| 1 : 3200 | ++ | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 | ++ | −− |
| 1 : 6400 | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | +− | −− |
| 1 : 12800 | 0? | + | 0 | 0 | 0 | 0 | ± | − |
| 1 : 25600 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kontrolle | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Bei Stamm III in allen Röhrchen geringe Spontanagglutination.

Agglutinationsergebnis nach 24 Stunden
(22 Stunden bei Zimmertemperatur).

| Serumverdünnung | Stamm I | | Stamm II | | Stamm III | | Stamm IV | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | B | A | B | A | B | A | B | A |
| 1 : 200 | +++ | +++ | ++ | ++ | 0 | 0 | +++ | +−− |
| 1 : 400 | +++ | +++ | + | ± | 0 | 0 | +++ | −−− |
| 1 : 800 | +++ | +++ | ± | 0 | 0 | 0 | +++ | +−− |
| 1 : 1600 | ++ | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 | +++ | +−− |
| 1 : 3200 | ++ | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 | ++ | +− |
| 1 : 6400 | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | +− | +− |
| 1 : 12800 | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | + | + |
| 1 : 25600 | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | + | − |
| 1 : 51200 | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | ± | ± |
| Kontrolle | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

gefestigte Stamm fast eine normale Agglutinabilität, so zeigt umgekehrt der in inaktivem Serum gezüchtete Stamm bei, wie wir früher gesehen haben, normaler Bakterizidieempfindlichkeit eine ausgeprägte Agglutininfestigkeit, die besonders stark bei dem in inaktivem Kaninchenimmunserum gezüchteten Stamm zum Ausdruck kommt. Es geht aus diesen Ergebnissen hervor, daß die Genese beider Arten von Festigkeit, der Bakterizidiefestigkeit und der Agglutininfestigkeit, sich unter verschiedenen Bedingungen vollzieht, und daß die in vitro entstehende Bakterizidiefestigkeit auch nicht mit einer Festigkeit gegen Agglutinine verbunden ist.



Besonders bemerkenswert ist der in den vorangehenden Versuchen hervortretende Antagonismus zwischen Bakterizidiefestigkeit und Agglutininfestigkeit: im aktiven Serum entwickelt sich elektive Bakterizidiefestigkeit, im inaktiven Serum elektive Agglutininfestigkeit. Es scheint hiernach, was auch Braun und Feiler aus ihren eigenen Versuchen schließen, die Anwesenheit des Komplements die Ausbildung der Inagglutinabilität zu verhindern. Mit diesen Ergebnissen stimmen auch die Erfahrungen über die agglutinationshemmende Wirkung frischer Normalsera, Immun- und Krankensera gut überein, wie sie besonders von Volk und de Waele (33), Paltauf (34), Scheller (35), Falta und Noeggerath (36) beschrieben worden sind. Ein ähnlicher Antagonismus zwischen Bakteriolyse und Agglutination macht sich auch im lebenden Organismus beim Pfeifferschen Versuch bemerkbar, bei dem bei ausgesprochener Lyse die Agglutination ganz zurücktritt, und nur die Aufhebung der Beweglichkeit (Paralysine Pfeiffers) ausgeprägt ist.

Agglutinationsversuche, die mit einem mit dem bakterizidiefesten Stamm erzeugten Immunserum unternommen wurden, ergaben das prinzipiell gleiche Resultat. Das mit dem bakterizidiefesten Stamm erzeugte Immunserum wirkt somit nicht nur bakterizid, sondern auch agglutinatorisch auf den Ausgangsstamm.

## X.

### Über die Virulenz bakterizidiefester Typhusbazillen.

Wir haben bereits bei der Erörterung unserer Schutzversuche kurz hervorgehoben, daß, obwohl der gegen aktives Kaninchenserum gefestigte Stamm auch eine maximale Bakterizidiefestigkeit gegen aktives Meerschweinchenserum besitzt, der bakterizidiefeste Typhusstamm 261 doch ebensowenig wie sein Ausgangsstamm sich als virulent für das Meerschweinchen bei intraperitonealer Infektion erwies. Wie Braun und Feiler bei ihrem Stamme Delp, beobachteten auch wir bei intraperitonealer Infektion mit dem festen Stamm 261, daß sich im Peritonealexsudat die bakterizidiefesten Bazillen frei noch nach vielen Stunden nachweisen ließen, um schließlich bei lebhaft vor sich gehender Phagozytose zu verschwinden.

Auch dem Kaninchen gegenüber, gegen dessen Serum die Bazillen ja primär gefestigt wurden, erfährt die Virulenz der Typhusbazillen nach dem Eintritt der Festigkeit keine nachweisbare Steigerung. Noch nach 56 Stunden konnten wir nach intravenöser Einverleibung die bakterizidiefesten Typhusbazillen in den Organen



der Kaninchen nachweisen. Nach 6 bzw. 10 Tagen nach der Injektion erwiesen sich in 2 Versuchen sämtliche Organe, auch die Gallenblase, steril.

Die Festigkeit gegen die bakteriziden Substanzen des Kaninchenserums verleiht somit den Typhusbazillen nicht die Eigenschaft der Virulenz für das serumspendende Tier.

Die gleiche Tatsache ist von Braun und Feiler bei kaninchenserumfesten Typhusstämmen gegenüber Meerschweinchen festgestellt worden.

## XI.

## Über die kulturellen Eigenschaften der in aktivem und inaktivem Kaninchenserum gezüchteten Typhusbazillen.

Unsere Erfahrungen über die Kultureigenschaften der im Serum gezüchteten Stämme stimmen mit denen von Braun und Feiler völlig überein. Sämtliche Stämme, die in aktivem und inaktivem, sowie die in reaktiviertem Kaninchenserum gezüchteten, zeigten auf allen Differentialnährböden das gleiche typische Verhalten wie der Ausgangsstamm. Nur in Bouillon ergaben sich Unterschiede: die in inaktivem Serum, besonders in inaktivem Immunserum gezüchteten Stämme haben die Neigung, als krümliger Bodensatz zu wachsen. Besonders ist dies bei den in inaktivem Immunserum gezüchteten Kulturen der Fall. Diese Eigenschaft wird auch in zahlreichen Bouillonpassagen, in denen Nebenwirkungen von mitübertragenem Immunserum mit Sicherheit auszuschließen sind, festgehalten. So wuchs noch unsere 44. Kultur in inaktivem Kaninchenimmunserum nach 8 Bouillonpassagen als flockiger, grob krümliger Bodensatz, über dem die Bouillon nur wenig getrübt erschien. Allmählich nimmt diese Trübung bei immer mehr abnehmendem Bodensatz zu, doch wuchs auch noch in der 19. Bouillonpassage der ursprünglich in inaktivem Kaninchenimmunserum gezüchtete Stamm teilweise als Bodensatz.

Mikroskopisch war in allen Serumkulturen die Pfaundlersche Fadenreaktion nachweisbar, die am geringsten in der Kultur in aktivem Normalserum, dagegen in den Kulturen von inaktivem Normalserum und inaktivem Immunserum stark ausgeprägt war. Die Beweglichkeit war in den Immunserumkulturen, sowohl in der inaktiven wie in der reaktivierten, aufgehoben, während sich in den Normalkulturen, sowohl in der aktiven wie inaktiven Kultur, neben unbeweglichen auch in mäßiger Zahl bewegliche Bazillen fanden, die zum Teil auch in Verbänden sich fortbewegten. Bei Überimpfung in Bouillon stellt sich die Beweglichkeit der Bazillen bei den aktiven und inaktiven Normalserumkulturen in wenigen Passagen wieder her (2 bis 3 Passagen), doch sieht man zwischen den lebhaft be-



weglichen Bazillen auch dann noch vereinzelte Haufen und Fadenknäuel, die zum Teil unbeweglich sind, zum Teil als Verband eine mäßige Beweglichkeit besitzen. Nur bei der Kultur in inaktivem Immunserum, die auch in zahlreichen Bouillonpassagen in Form eines Bodensatzes wuchs, blieb gleichzeitig mit der Erhaltung der Fadenreaktion auch nach acht Bouillonpassagen noch großenteils die Beweglichkeit der Bazillen aus.

Morphologisch unterscheiden sich die in Serum gezüchteten Bazillen von ihrem Ausgangsstamm durch ihre plumpere Gestalt (animalische Bazillen von Bail), doch stehen diese Gestaltsveränderungen in keiner Beziehung zu der Bakterizidiefestigkeit und zur Agglutininfestigkeit der Typhusbazillen, da sie sowohl in den Kulturen in aktivem wie in inaktivem Serum in Erscheinung treten.

## XII.

## Über die Bakterizidiefestigkeit frisch aus dem Blute von Typhuskranken gezüchteter Typhusbazillen.

Auf der in den vorangehenden Untersuchungen gewonnenen Grundlage sind wir schließlich in das Studium der Bakterizidiefestigkeit des Typhusbazillus beim typhuskranken Menschen eingetreten. Der früheren, zum Teil voneinander abweichenden Befunde, die mit verschiedenartigen Methoden gewonnen wurden, ist in der Einleitung unserer Arbeit gedacht worden. Exakte Untersuchungen über die Bakterizidiefestigkeit der frisch aus dem Blute des Typhuskranken gezüchteten Bazillen unter den Kautelen, wie sie sich aus den geschilderten Resultaten über die experimentelle Bakterizidiefestigkeit ergeben, liegen bisher nicht vor.

Wir beschäftigen uns zunächst mit der Frage nach dem Grade der Bakterizidiefestigkeit frisch aus dem Körper gezüchteter Stämme und weiter mit der Frage, ob ähnlich wie bei den experimentell gefestigten Typhusbazillen auch bei den aus dem Blute des Typhuskranken gezüchteten Typhusbazillen die Übertragung auf feste Nährböden eine rapide Abnahme der Bakterizidiefestigkeit zur Folge hat. Wir überzeugten uns zunächst, daß für die Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen bei Aufenthalt in Galle die gleichen Gesetzmäßigkeiten gelten, wie wir sie in den vorangegangenen Versuchen für Bouillon kennen gelernt haben, und daß die Bakterizidiefestigkeit experimentell gefestigter Typhusbazillen nach 3tägigem Aufenthalt in Rindergalle keine merkliche Einbuße erleidet.

Zur Entscheidung der Frage nach dem Einfluß flüssiger und fester Nährböden auf die Bakterizidiefestigkeit frisch aus dem Blute gezüchteter Typhusbazillen standen uns 5 frisch aus dem Blute von Typhuskranken gewonnene, in Galle gezüchtete typische Typhusstämme zur Verfügung.



Zur Technik der Versuche haben wir folgendes vorauszuschicken: Die Blutgallenröhrchen wurden bis zur endgültigen Diagnosenstellung nach 24stündiger Bebrütung bei 37° durchschnittlich 3 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Am Tage vor dem Versuch wurde vom Gallenröhrchen eine Agar- und Bouillonkultur angelegt, die 24 Stunden bei 37° bebrütet wurde. Die Prüfung der Bakterizidiefestigkeit der frisch aus dem Blute der Typhuskranken gezüchteten Gallenkultur und ihrer Tochterstämme in Bouillon und auf Agar geschah in ähnlicher Weise wie bei unseren experimentell gefestigten Typhusbazillen mit Hilfe des bakteriziden Plattenversuches.

Tabelle XXX.

Zur Frage der Bakterizidiefestigkeit frisch aus dem Blut von Typhuskranken gezüchteter Typhusbazillen und der Erhaltung der Festigkeit in flüssigen und auf festen Nährböden.

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Gallenkultur des Typhusstammes H, am 8. Krankheitstage aus dem Blute eines Typhuskranken gezüchtet. 3 Tage alte Kultur.
II. Bouillonkultur des Typhusstammes H, von der Gallenkultur nach 2 Tagen auf Bouillon abgeimpft und 24 Stunden bei 37° bebrütet.
III. Agarkultur des Typhusstammes H, von der Gallenkultur nach 2 Tagen auf Agar abgeimpft und 24 Stunden bei 37° bebrütet.
IV. Stamm 682, Laboratoriumsstamm, 24stündige Bouillonkultur.

Die Stämme werden gegen fallende Mengen von aktivem normalen Menschenserum geprüft in folgender Weise:

0·1 $^1/_{50}$ ccm jeder Kultur, von der Agarkultur 0·1 $^1/_{500}$ ccm, mit Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in

1. 1 ccm aktives normales Menschenserum,
2. 0·5 ccm aktives Menschenserum + 0·5 ccm Kochsalzlösung,
3. 1·0 $^1/_{10}$ ccm aktives Menschenserum,
4. 1 ccm inaktives normales Menschenserum,
5. 1 ccm inaktives normales Menschenserum.

Röhrchen 5 wird sofort, die übrigen Röhrchen nach 3 Stunden bei 37° ausgegossen.

Plattenauszählung nach 24stündiger Bebrütung bei 37°.

Stamm I, Gallenkultur:

1. 38·4 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. 42·1 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. 58·6 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 80 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Bouillonkultur des Stammes H:

1. 21·6 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. 17·5 Kolonien im Gesichtsfeld.



3. 15·3 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 600 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm III, Agarkultur des Stammes H:

1. Steril.
2. Steril.
3. 0·52 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm IV, Stamm 682:

1. Steril.
2. Steril.
3. Steril.
4. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 300 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrolle: 0·5 ccm aktives Menschenserum + 0·5 ccm Kochsalzlösung (unbeimpft). Nach 3stündiger Bebrütung bei 37° zur Platte ausgegossen: Steril.

Resultat: Der aus dem Blut eines Typhuskranken isolierte Typhusstamm zeigt bei Züchtung in Galle und einmaliger Fortimpfung in Bouillon gegenüber dem zum Vergleich herangezogenen Laboratoriumsstamm eine mäßige, jedoch nicht entfernt maximale Bakterizidiefestigkeit gegen aktives Menschenserum. Schon nach einmaliger Übertragung auf Agar geht diese Bakterizidiefestigkeit verloren.

## Tabelle XXXI.

Zur Frage der Bakterizidiefestigkeit frisch aus dem Blut von Typhuskranken gezüchteter Typhusbazillen und der Erhaltung der Festigkeit in flüssigen und auf festen Nährböden.

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Gallenkultur des Typhusstammes D, am 7. Krankheitstage aus dem Blute eines Typhuskranken gezüchtet. 3 Tage alte Kultur.
II. Bouillonkultur des Typhusstammes D, von der Gallenkultur nach 2 Tagen auf Bouillon abgeimpft und 24 Stunden bei 37° bebrütet.
III. Agarkultur des Typhusstammes D, von der Gallenkultur nach 2 Tagen auf Agar abgeimpft und 24 Stunden bei 37° bebrütet.
IV. Stamm 682, Laboratoriumsstamm, 24stündige Bouillonkultur.

Die Versuchsanordnung ist die gleiche wie in Versuch Tab. XXX.

Stamm II, Gallenkultur:

1. 15 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. 25·2 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. 23·6 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 80 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 50 Kolonien im Gesichtsfeld.



Stamm II, Bouillonkultur des Stammes D:

1. 30·6 Kolonien im Gesichtsfeld,
2. 42·7 Kolonien im Gesichtsfeld,
3. 39·8 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm III, Agarkultur des Stammes D:

1. 0·22 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Steril.
3. 1·7 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 500 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm IV, Stamm 682:

1. 0·07 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. 0·17 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. 0·13 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld.

Resultat: Der aus dem Blut eines Typhuskranken isolierte Typhusstamm zeigt bei Züchtung in Galle und einmaliger Fortimpfung in Bouillon gegenüber dem zum Vergleich herangezogenen Laboratoriumsstamm eine deutliche Bakterizidiefestigkeit mäßigen Grades gegenüber aktivem Menschenserum. Auch bei diesem Stamm geht die Bakterizidiefestigkeit nach einmaliger Übertragung auf Agar verloren.

Das prinzipiell gleiche Ergebnis erzielten wir bei 3 weiteren frisch aus dem Blut von Typhuskranken gewonnenen Typhusstämmen, die zwischen dem 6. und 10. Krankheitstage aus dem Blut gezüchtet wurden. Auch bei ihnen trat eine nur mäßige Bakterizidiefestigkeit in die Erscheinung. In keinem Falle wurde eine maximale Bakterizidiefestigkeit gegen aktives Menschenserum beobachtet. Bei einem dieser Stämme konnten wir die Bakterizidiefestigkeit bis zur 3. Passage in Bouillon verfolgen, während sie auf Agar bei allen Stämmen spätestens in der 2. Passage geschwunden war.

Wir treffen somit bei den aus dem Blut typhuskranker Menschen gezüchteten bakterizidiefesten Typhusstämen ähnliche Verhältnisse an, wie wir sie bei den im Reagenzglase gefestigten Typhusbazillen beobachten können: die Bakterizidiefestigkeit bleibt in flüssigen Nährmedien einige Zeit erhalten, während sie in Agarkulturen sehr rasch verschwindet.

Die Bakterizidiefestigkeit der im Blut von Typhuskranken kreisenden Typhusbazillen stellt somit eine labile, sich außerhalb des Organismus



rasch zurückbildende Anpassungsform der Bakterien dar, die nicht mit jener Form der Serumfestigkeit identifiziert werden darf, die nach den Beobachtungen von Friedberger und Moreschi, Neufeld und Lindemann, Besserer und Jaffé, Schlemmer als Dauerzustand in die Erscheinung tritt und sich auch nach zahlreichen Agarkulturpassagen ungemindert erhält. Die Flüchtigkeit der Bakterizidiefestigkeit frisch aus dem Blut gezüchteter Typhusbazillen demonstriert sich auch darin, daß bei zwei von unseren Stämmen die Bakterizidiefestigkeit der Gallenkultur nach 10tägigem Stehen bei Zimmertemperatur vollständig geschwunden war. Hierauf dürfte es vielleicht auch zurückzuführen sein, daß wir bei 2 Typhusgallenkulturen, die aus äußeren Gründen erst 9 Tage nach der Gewinnung geprüft wurden, eine normale Serumempfindlichkeit antrafen.

Wie bei den in vitro gefestigten Typhusbazillen ist auch bei den aus dem Menschen gezüchteten Typhusbazillen eine Tierspezifität der Bakterizidiefestigkeit nicht vorhanden, ein Befund, der sich mit den durch andere Methodik gewonnenen Beobachtungen von Eisenberg deckt. Unsere aus den Typhuskranken isolierten bakterizidiefesten Stämme waren in entsprechendem Maße auch fest gegen aktives normales Kaninchenserum. Als Beispiel führe ich folgenden Versuch an.

### Tabelle XXXII.

Zur Frage der Tierspezifität der Bakterizidiefestigkeit frisch aus dem Blut von Typhuskranken gezüchteter Typhusbazillen.

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Gallenkultur des Typhusstammes W, am 7. Krankheitstage aus dem Blute eines Typhuskranken gezüchtet. 3 Tage alte Kultur.

II. Stamm 682, Laboratoriumsstamm, 24stündige Bouillonkultur.

Die Stämme werden geprüft gegen Kaninchenserum in folgender Weise: 0·1 $^{1}/_{50}$ ccm jeder Kultur, mit Kochsalzlösung verdünnt, werden verimpft in

1. 1 ccm aktives normales Kaninchenserum,
2. 1 ccm inaktives normales Kaninchenserum,
3. 1 ccm inaktives Kaninchennormalserum.

Röhrchen 3 wird sofort, die übrigen Röhrchen nach 3 Stunden bei 37° zur Platte ausgegossen.

Plattenauszählung nach 24stündiger Bebrütung bei 37°.

Stamm I, Gallenkultur:

1. 23·6 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 40 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Stamm 682:
1. 1·6 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld.

Resultat: Der frisch aus dem Blut des Typhuskranken isolierte und in Galle gezüchtete Typhusstamm zeigt gegenüber dem zum Vergleich herangezogenen Laboratoriumsstamm eine deutliche Bakterizidiefestigkeit gegenüber aktivem normalen Kaninchenserum. Eine Tierspezifität der Bakterizidiefestigkeit besteht somit auch bei den aus dem Menschen gezüchteten Typhusbazillen nicht. Auch gegen aktives normales Kaninchenserum zeigt sich der frisch isolierte Stamm nicht maximal bakterizidiefest. Gegenüber der Einsaat findet eine Abtötung bis etwa zur Hälfte der eingeimpften Keime in aktivem Kaninchennormalserum statt.

Es handelt sich somit bei der Bakterizidiefestigkeit der frisch aus dem Typhuskranken isolierten Typhusbazillen im Gegensatz zu Eisenberg nicht um eine maximale Festigkeit, sondern nur um eine labile relative Festigkeit, die nicht ausreicht, um stärkere bakteriolytische Immunitätsvorgänge zu paralysieren. Damit fällt der Einwand von Bail gegen die Bedeutung der bakteriziden Schutzstoffe für die Immunität beim Typhus abdominalis.

Was die Ursachen dieser Relativität der Bakterizidiefestigkeit der in dem erkrankten Menschen kreisenden Bazillen betrifft, so kann sie in manchen Fällen vielleicht darauf zurückzuführen sein, daß die in der Galle angereicherten Keime zu kurze Zeit im Blutstrom verweilten, um eine maximale Bakterizidiefestigkeit in sich zur Ausprägung zu bringen. Eine gewisse ätiologische Rolle kann hierbei auch möglicherweise dem oben geschilderten Antagonismus zwischen Bakterizidiefestigkeit und Agglutination zukommen. Bekanntlich weisen frisch aus dem kranken Organismus herausgezüchtete Stämme gegenüber den auf künstlichen Nährböden gezüchteten Kulturen häufig eine mehr oder minder beträchtliche Hypagglutinabilität auf. Es wäre möglich, in Analogie zu den Verhältnissen im Reagenzglase, daß, je günstiger die Bedingungen für das Zustandekommen der Hypagglutinabilität der Typhusbazillen in vivo gegeben sind, desto engere Grenzen der Ausbildung der Bakterizidiefestigkeit im erkrankten Organismus gesetzt sind. Der Kardinalfaktor für die Relativität der Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen gegen Menschenserum dürfte aber unserer Ansicht nach darin zu suchen sein, daß die bakterizide Kraft des menschlichen normalen Serums (geschweige denn die des menschlichen nativen Immunserums) in vielen Fällen



über die potentielle Adaptionsfähigkeit des Typhusbacillus hinausgeht. In Abschnitt V haben wir für diese Annahme mancherlei Argumente zusammengetragen. Erhärtet wird diese Annahme durch die Tatsache, daß es uns trotz monatelangen Bemühens und trotz vielfacher Variationen der technischen Methoden bei drei typischen Typhusstämmen niemals geglückt ist, in vitro eine maximale dauernde primäre Bakterizidiefestigkeit gegen beliebiges aktives Menschenserum zu erzielen und die Typhusbazillen durch unbegrenzte Passagen von aktivem Menschenserum verschiedener Individuen hindurchzuführen. Es ist uns vielfach gelungen, gegen einzelne Menschensera vorübergehend eine deutliche Bakterizidiefestigkeit zu erzeugen, doch mußten wir uns in späteren Passagen davon überzeugen, daß diese Festigkeit schon gegenüber anderen normalen Menschenseris versagen kann. Der folgende Versuch möge dieses Verhalten illustrieren.

Tabelle XXXIII (13. 11. 1916).

Läßt sich im Reagenzglase gegen aktives Menschenserum eine Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen erzielen?

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Kultur des Typhusstammes 682 in aktivem normalen Menschenserum, 5 Passagen bei täglicher Überimpfung von 0·1 ccm in 1·0 $^1/_{10}$ aktivem normalen Menschenserum gezüchtet. (Die Kulturen in 1 ccm und 0·5 ccm aktivem Menschennormalserum sind trotz starker anfänglicher Beimpfung bereits in der 3. Menschenserumpassage erloschen.)

II. Ausgangsstamm 682, 24stündige Bouillonkultur.

Die Stämme werden geprüft gegen fallende Mengen von aktivem normalen Menschenserum in folgender Weise:

0·05 ccm der Kultur I und 0·1 $^1/_{50}$ ccm der Kultur II werden verimpft in

1. 1 ccm aktives normales Menschenserum,
2. 0·5 ccm aktives normales Menschenserum + 0·5 ccm Kochsalzlösung,
3. 1·0 $^1/_{10}$ ccm aktives normales Menschenserum,
4. 1 ccm inaktives normales Menschenserum,
5. 1 ccm inaktives normales Menschenserum.

Röhrchen 5 wird sofort zur Bestimmung der Einsaat, mit 10 ccm Agar vermischt, zur Platte ausgegossen, die übrigen Röhrchen nach 3stündiger Bebrütung bei 37°.

Plattenauszählung am 14. 11. 1916.

Stamm I, Kultur in aktivem Menschenserum:

1. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.





3. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 90 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Ausgangsstamm, Bouillonkultur 682:

1. Steril.
2. 0·28 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. 0·12 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 250 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrolle: 0·5 ccm aktives normales Menschenserum + 0·5 ccm Kochsalzlösung wird unbeimpft nach 3stündiger Bebrütung bei 37° zur Platte ausgegossen: Steril.

**Resultat:** Es läßt sich auch in vitro eine deutliche Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen gegen aktives normales Menschenserum primär erzielen. Diese Festigkeit ist jedoch **quantitativ begrenzt**, wie dies der folgende Versuch zeigt.

Tabelle XXXIV (14. 11. 1916).

**Zur Frage der Relativität der Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen gegen aktives Menschenserum.**

Folgende Stämme werden untersucht:

I. Kultur des Typhusstammes 682 in aktivem normalen Menschenserum, 6 Passagen bei täglicher Überimpfung von 0·1 ccm in 1·0 $^1/_{10}$ aktivem normalen Menschenserum gezüchtet.

II. Ausgangsstamm 682, 24stündige Bouillonkultur.

Die Stämme werden geprüft gegen aktives normales Menschenserum in folgender Weise:

Je 0·05 ccm der Kultur I und 0·1 $^1/_{50}$ ccm der Kultur II werden verimpft in

1. 1 ccm aktives normales Menschenserum,
2. 0·5 ccm aktives normales Menschenserum + 0·5 ccm Kochsalzlösung,
3. 1·0 $^1/_{10}$ ccm aktives normales Menschenserum,
4. 1 ccm inaktives normales Menschenserum,
5. 1 ccm inaktives normales Menschenserum.

Kontrollen: a) 1 ccm aktives Menschenserum (unbeimpft).
b) 0·5 ccm aktives Menschennormalserum + 0·5 ccm Kochsalzlösung (unbeimpft).

Röhrchen 5 wird zur Bestimmung der Einsaat sofort mit 10 ccm Agar vermischt, zur Platte ausgegossen, die übrigen Röhrchen nach 3stündiger Bebrütung bei 37°.



**Plattenauszählung am 15. 11. 1916.**

Stamm I, Kultur in aktivem Menschennormalserum:

1. 41·9 Kolonien im Gesichtsfeld.
2. 43·3 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. Etwa 100 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 600 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 200 Kolonien im Gesichtsfeld.

Stamm II, Ausgangsstamm 682, Bouillonkultur:

1. Steril.
2. 0·08 Kolonien im Gesichtsfeld.
3. 0·12 Kolonien im Gesichtsfeld.
4. Etwa 400 Kolonien im Gesichtsfeld.
5. Etwa 150 Kolonien im Gesichtsfeld.

Kontrollen a und b: Steril.

Resultat: Der in der 5. Passage durch aktives normales Menschenserum gegen aktives Menschennormalserum fast maximal bakterizidiefeste Stamm wird in der 6. Menschenserumpassage bei Verwendung eines anderen aktiven normalen Menschenserums stark bakterizid beeinflußt.

Ihre Erklärung finden diese Schwankungen der Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen gegenüber verschiedenen normalen Menschenseris in den beträchtlichen Differenzen des bakteriziden Titers menschlicher Normalsera, wie sie von Korte und Steinberg (37) beschrieben worden sind. Wir müssen annehmen, daß die potentielle Anpassungsfähigkeit des Typhusbacillus wohl ausreicht, um sich den bakteriziden Funktionen tierischer und mancher menschlicher Sera zu entziehen, daß aber die bakterizide Kraft schon vieler menschlicher Normalsera über das maximale Adaptionsvermögen der Typhusbazillen hinausgeht. So wird die bakterizide Einwirkung menschlicher Sera infolge einer konstitutionellen Insuffizienz der Typhusbazillen vielfach nur mit einer unvollständigen Bakterizidiefestigkeit beantwortet werden können, die zwar den Untergang der Typhusbazillen verzögert, aber ihn nicht auf die Dauer zu verhindern vermag. Hier bergen sich Probleme der individuellen Disposition, die Gegenstand weiterer Untersuchungen sein sollen.

## XIII.

Mit der Feststellung der relativen Bakterizidiefestigkeit der im Blut des Typhuskranken kreisenden Bazillen ist das Problem der Bakteriämie beim Abdominaltyphus dem Verständnis nähergerückt. Nicht in einem Sinken der Immunität des Wirtsorganismus, sondern in der gerade unter dem Einfluß dieser Immunität sich vollziehenden biologischen Um-



stimmung der Typhusbazillen zu relativ serumresistenten Individuen liegt die Genese der Bakteriämie begründet. Der Eintritt dieser Festigkeit ist die notwendige Voraussetzung für das Haften der eingedrungenen Typhusbazillen in den Lymphgefäßen, für ihre Weiterverbreitung in den größeren Lymphbahnen und den zugehörigen Lymphdrüsen und für ihre Persistenz im großen Lymphstamm, von dem aus dann die Infektion des Blutes erfolgt. Den bakteriziden Funktionen des Lymphapparates angepaßt, bleibt ein Teil der ins hochbakterizide Blut eindringenden Bazillen zum mindesten vor einem momentanen Untergang geschützt und wird in die verschiedenen Organe geworfen, in denen sie bei vielleicht verminderter Säftebakterizidie (Bail und Pettersson, Hoke, Hata) die charakteristischen metastatischen Entzündungsherde auslösen.

Damit erweitert sich die Anpassung der Typhusbazillen an die bakteriziden Funktionen des Serums zu einem erklärenden Grundprinzip für die Pathogenese der typhösen Infektion: nicht nur die Inkubation, auch der Ablauf und Ausgang der Krankheit tritt in Beziehungen zu den Adaptionserscheinungen der Erreger.

## Zusammenfassung.

1. In aktivem normalen Kaninchenserum gezüchtete Typhusbazillen vermögen sich in wenigen Passagen gegen die bakteriziden Körper des normalen Kaninchenserums zu festigen.

2. Die Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen gegen aktives normales Kaninchenserum ist nach 3 bis 4 Passagen voll ausgebildet.

3. Die Festigung des Typhusbacillus gegen die bakteriziden Substanzen des Serums tritt nur in aktivem Serum ein, dagegen vermag auch die langandauernde Züchtung der Typhusbazillen in inaktivem Normal- und Immunserum nicht den Zustand der Bakterizidiefestigkeit herbeizuführen.

4. Zur Ausbildung der Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen ist somit die Anwesenheit des Komplements unbedingt erforderlich. Die Einwirkung des bakteriziden Ambozeptors allein genügt nicht zur Auslösung der Festigkeit.

5. Die gegen aktives Kaninchenserum erworbene Bakterizidiefestigkeit ist nicht tierspezifisch, sondern kommt auch anderen bakteriziden Seris, wie Hundeserum, Meerschweinchenserum und Menschenserum gegenüber zum Ausdruck.

6. Die Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen und ihre Unspezifität ist nicht im Sinne einer allgemeinen Resistenzsteigerung zu erklären. Wenigstens zeigen kaninchenserumfeste Typhusstämme gegenüber chemotherapeutischen Agentien keine Herabsetzung der Empfindlichkeitsschwelle im Vergleich zu den entsprechenden Ausgangsstämmen.

7. Die Bakterizidiefestigkeit kaninchenserumfester Typhusbazillen gegenüber aktivem Menschenserum ist nur eine relative Festigkeit. Sie ist nicht wie beim Meerschweinchenserum durch ungehemmte Wachstumsfähigkeit im heterologen bakteriziden Serum charakterisiert, sondern vielmehr durch eine gegenüber dem Ausgangsstamm stark verlängerte Abtötungszeit.

8. Die Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen bleibt bei Übertragung in Bouillon durch einige Passagen hindurch maximal erhalten. Sie nimmt allmählich ab, bleibt aber nach zahlreichen Bouillonpassagen (20) noch deutlich ausgeprägt. Bei Überführung von bakterizidiefesten Typhusbazillen auf Agar geht die Bakterizidiefestigkeit schneller und vollkommener verloren. Schon in der ersten Agarpassage ist bei einem beträchtlichen Teil der Bazillen die Bakterizidiefestigkeit erloschen.

9. Die Rückbildung der Bakterizidiefestigkeit gegen heterologes Serum unterliegt den gleichen Gesetzen wie die Bakterizidiefestigkeit gegenüber homologem Serum.

10. Starker Hämoglobingehalt des aktiven Serums ist der Ausbildung der Bakterizidiefestigkeit bei Typhusbazillen hinderlich; auf die bereits eingetretene Festigkeit ist er ohne Einfluß.

11. Bakterizidiefeste Typhusbazillen sind auch gegenüber einem mit dem gleichen bakterizidiefesten Typhusbazillen erzeugten Immunserum maximal bakterizidiefest. Dagegen werden bei aktiver Immunisierung mit bakterizidiefesten Typhusbazillen bakterizide Ambozeptoren gebildet, die auf den serumempfindlichen Ausgangsstamm eingestellt sind. Bakterizidiefeste Typhusbazillen verfügen somit noch über den gleichen Rezeptorenapparat wie ihr Ausgangsstamm.

12. Der Mechanismus der Serumfestigkeit der Typhusbazillen ist wesensverschieden von dem bei serumfesten Trypanosomen.

13. Die aktive Immunisierung mit dem bakterizidiefesten Stamm schützt die geimpften Tiere vor einer bei unbehandelten Tieren tödlichen Infektion mit dem serumempfindlichen Typhusausgangsstamm. Ebenso schützt die prophylaktische Impfung mit dem Ausgangsstamm bzw. dem bakterizidiefesten Stamm vor einer bei unbehandelten Tieren tödlich verlaufenden Infektion mit bakterizidiefesten Typhusbazillen.



14. Die in vitro erworbene Festigkeit der Typhusbazillen stellt eine spezifische Bakterizidiefestigkeit dar, die maximal gegen die bakteriolytischen Ambozeptoren gerichtet ist, jedoch nicht auch eine entsprechende Festigkeit gegen andere spezifische Typhusantikörper (phagozytäre Serumkörper und Agglutinine) umschließt.

15. Der in vitro gegen die bakterizide Serumwirkung maximal gefestigte Typhusstamm zeigt eine fast normale Agglutinabilität; der in inaktivem Serum gezüchtete Typhusstamm zeigt bei normaler Bakterizidieempfindlichkeit eine ausgeprägte Agglutininfestigkeit. Die Genese der Bakterizidiefestigkeit und Agglutininfestigkeit vollzieht sich somit unter verschiedenen Bedingungen. Ist die Ausbildung der Bakterizidiefestigkeit an die Anwesenheit des Komplements geknüpft, so wird die Ausbildung der Agglutininfestigkeit durch Anwesenheit des Komplements gehindert.

16. Der Eintritt der Bakterizidiefestigkeit verleiht avirulenten Typhusbazillen nicht die Eigenschaft der Virulenz (vgl. Braun und Feiler).

17. Die in Serum gezüchteten Typhusbazillen unterscheiden sich von ihrem Ausgangsstamm durch ihre plumpere Gestalt, doch stehen diese Gestaltsveränderungen in keiner Beziehung zu der Bakterizidiefestigkeit und zur Agglutininfestigkeit der Typhusbazillen, da sie sowohl in den Kulturen in aktivem wie in inaktivem Serum in Erscheinung treten.

18. Die in inaktivem Serum, besonders in inaktivem Immunserum gezüchteten Typhusbazillen haben die Neigung, viele Passagen durch Bouillon als Bodensatz zu wachsen.

19. Die bakterizidiefesten Typhusbazillen bewahren im übrigen die kulturellen Eigenschaften ihres Ausgangsstammes.

20. Die Bakterizidiefestigkeit der frisch aus dem Blut von Typhuskranken gezüchteten Typhusbazillen stellt nach unseren Befunden nur eine labile relative Festigkeit dar, die nicht ausreicht, um stärkere bakteriolytische Immunitätsvorgänge zu paralysieren. Damit steht in Parallele die Schwierigkeit der Erzeugung einer maximalen Bakterizidiefestigkeit der Typhusbazillen gegen aktives Menschenserum in vitro.

21. Die Bakterizidiefestigkeit frisch aus dem Blut von Typhuskranken isolierten Typhusbazillen ist tierunspezifisch. Sie erhält sich kurze Zeit in flüssigen Nährböden und verschwindet rasch bei Übertragung auf feste Nährböden.

22. Die Anpassung der Typhusbazillen an die bakteriziden Funktionen des Serums ist eine der notwendigen Voraussetzungen für das Zustandekommen der typhösen Infektion.



Besondere Dankeschuld empfinde ich gegenüber meinen derzeitigen militärischen Vorgesetzten, dem Garnisonarzt Oberstabsarzt Prof. Dr. Felix Klemperer und dem Chefarzt eines Festungslazaretts Stabsarzt Dr. Conzen, welche mir eine Arbeitsstätte im Felde geschaffen und mir damit die Möglichkeit zur Fortsetzung meiner Versuche gegeben haben. Ebenso bin ich Oberarzt Dr. Hamburger, Leiter eines bakteriologischen Laboratoriums, für die stets hilfsbereite Überlassung des bakteriologischen Materials zu Dank verpflichtet.

Ihrer Förderung habe ich es zu danken, wenn diese Arbeit, im Frieden in der Heimat begonnen, durch den Krieg mehrfach unterbrochen, nunmehr nach fast 3 Jahren im Feindesland beendet werden konnte.

Abgeschlossen Sylvester 1916.

## Literaturverzeichnis.

1. Besredka, *Semaine médicale*. 1912. S. 524.
2. Castellani, *Zentralbl. f. Bakt.* 1909. Bd. LII. S. 94.
3. Pescarolo und Quadrone, zitiert nach Ebert, *Zentralbl. f. innere Med.* 1908. Bd. XXIX. Nr. 40.
4. Bail und Pettersson, *Zentralbl. f. Bakt.* Abt. I. Bd. XXVII. S. 33.
5. Bail und Hoke, *Wiener klin. Wochenschr.* 1906.
6. Hata, *Zentralbl. f. Bakt.* Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. S. 479.
7. Töpfer und Jaffé, *Diese Zeitschr.* 1906. Bd. LII. S. 393.
8. Stern und Korte, *Berliner klin. Wochenschr.* 1904.
9. Jürgens, *Berliner klin. Wochenschr.* 1905. Nr. 6.
10. Eisenberg, *Zentralbl. f. Bakt.* Originale 1903. Bd. XXXIV. S. 739.
11. Derselbe, *Ebenda.* Originale 1908. Bd. LXV. S. 44, 134, 638.
12. Hektoen und Rüdiger, *Journ. of Inf. Dis.* Vol. II. p. 128—141.
13. Stern, *Verhandlungen der Naturforscherversammlung zu Breslau.* Sitzung der Abteilung für innere Medizin vom 19. Sept. 1904. S. 21.
14. Eppenstein und Korte, *Münchener med. Wochenschr.* 1906. Nr. 24. S. 1149.
15. Friedberger und Moreschi, *Berliner klin. Wochenschr.* 1905. Nr. 45.
16. Besserer und Jaffé, *Deutsche med. Wochenschr.* 1905. Nr. 51.
17. Schlemmer, *Zeitschrift für Immunitätsforschung.* 1911. Bd. IX. S. 149.
18. Neufeld und Hüne, *Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt.* Bd. XXV. Heft 1.
19. Neufeld und Lindemann, *Zentralbl. f. Bakt.* Ref. 1912. Bd. LIV. Beiheft. S. 229.
20. Laubenheimer, *Zeitschr. f. klin. Med.* Bd. LVI. Heft 1—2.



21. Töpfer und Jaffé, *Diese Zeitschr.* 1906. Bd. LII. S. 393.

22. Trommsdorff, *Arch. f. Hyg.* 1901. Bd. XXXIX. S. 31.

23. Cohn, *Diese Zeitschr.* Bd. XLV. S. 63.

24. Bail und Rubritius, *Zentralbl. f. Bakt.* 1907. Bd. XLIII. S. 641.

25. Tsuda, *Zentralbl. f. Bakt.* Bd. XLVIII. S. 277.

26. Bezzola, *Zentralbl. f. Bakt.* 1909. Bd. LXVIII. S. 336.

27. Braun und Feiler, *Zeitschrift für Immunitätsforschung.* 1914. Bd. XXI. S. 447.

28. Dieselben, *Ebenda.* 1915. Bd. XXIV. S. 411.

29. Neisser und Wechsberg, *Münchener med. Wochenschr.* 1901.

30. Ehrlich, *Münchener med. Wochenschr.* 1909. Nr. 5.

31. Ehrlich, Röhl und Gulbransen, *Zeitschrift für Immunitätsforschung.* 1909. S. 296.

32. Rosenthal, *Diese Zeitschr.* 1913. Bd. LXXIV. S. 489.

33. Volk und de Waele, *Wiener klin. Wochenschr.* 1902.

34. Paltauf, *Die Agglutination im Handbuch von Kolle-Wassermann.* 1913. Bd. II. S. 1.

35. Scheller, *Diese Zeitschr.* 1906. Bd. LIV; *Zentralbl. f. Bakt.* 1905. Bd. XXXVIII. S. 100.

36. Falta und Noeggerath, *Deutsches Arch. f. klin. Med.* 1905. Bd. LXXXIII. S. 150.

37. Korte und Steinberg, *Münchener med. Wochenschr.* 1905. Nr. 21.



# Geschichtliche Beiträge zur Seuche des Thukydides.

Von

San.-Rat Dr. **Paul Richter**,
Hautarzt in Berlin.

---

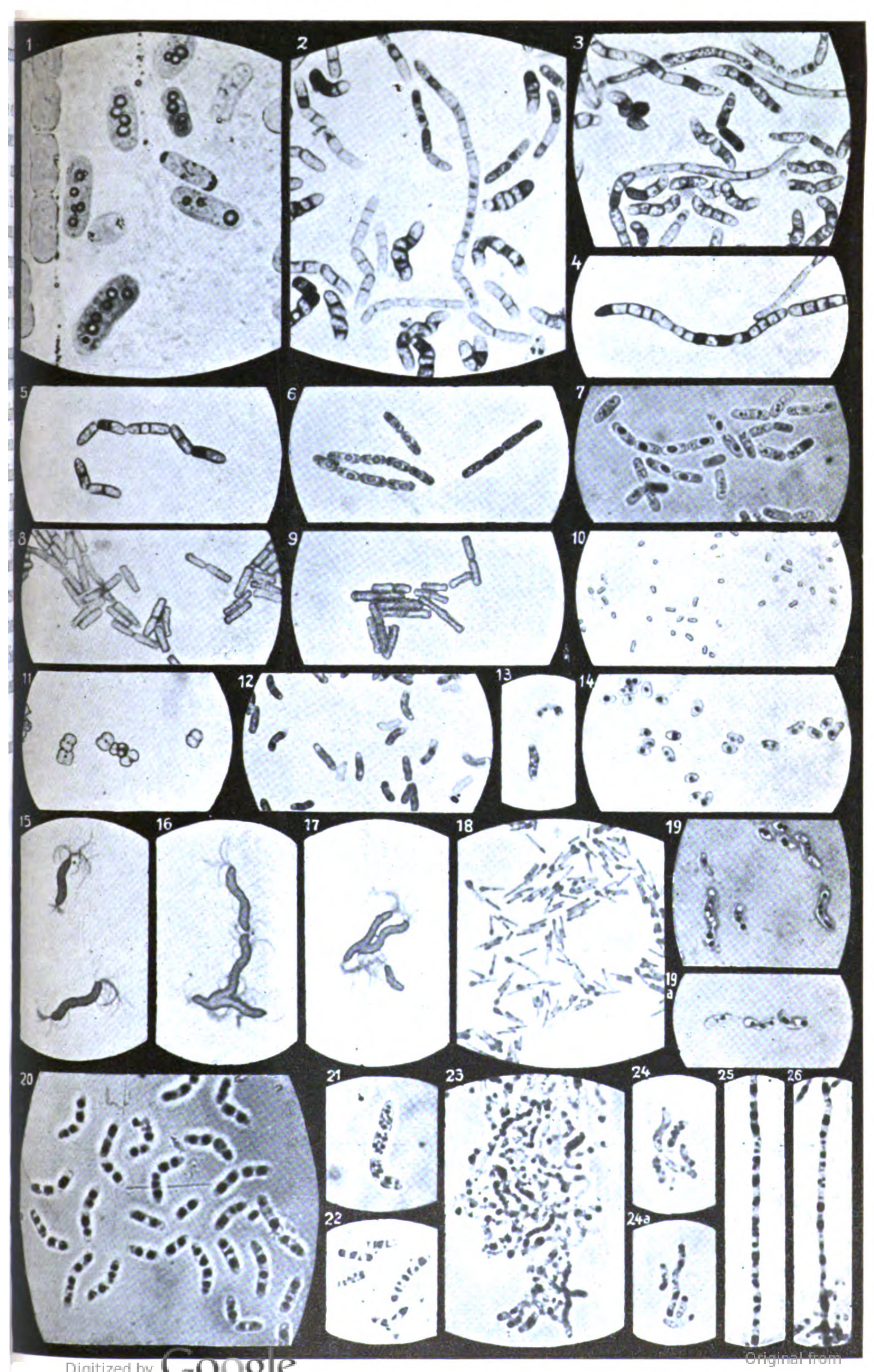
Im 82. Bande dieser Zeitschrift, welcher 1916 erschienen ist, hat Friedrich Kanngiesser einen Aufsatz über diese Seuche geschrieben, von dem ich erst im Januar 1918 ein Referat gelesen, den ich aber erst im Februar im Original zu Gesicht bekommen habe. Seit dem Jahre 1911 streite ich mit Kanngiesser über die Natur dieser Seuche, welche ich auf Grund eingehender, im Archiv für Geschichte der Medizin, Bd. VI, Heft 4, 1912, veröffentlichten Mitteilungen für Milzbrand erklärt hatte, und mein Schlußwort sollte auf der Naturforscherversammlung 1914 in Hannover erfolgen. Aber der Kriegsgott hat Einspruch erhoben, und die Veröffentlichung meines Vortrages, welcher ein Heft dieser Zeitschrift reichlich überschritten hätte, mußte unterbleiben, erstens weil die Verbindung mit den auswärtigen Bibliotheken unterbrochen wurde, zweitens weil ich als Arzt bald mit praktischer Arbeit überhäuft wurde, und mir der Sinn bei der Not des Vaterlandes nicht nach theoretischen Streitigkeiten stand, drittens weil die vom östlichen Nachbar eingeschleppte große Fleckfieberepidemie neue Gesichtspunkte für die Epidemiologie dieser entsetzlichen Seuche brachte, welche jetzt noch nicht restlos geklärt sind, und viertens weil ein Erscheinen der Arbeit durch die Kriegsnöte und Gesetze wahrscheinlich verhindert worden wäre. Ich würde auch jetzt auf die Arbeit von Kanngiesser nicht antworten, wenn ich nicht angegriffen wäre, und weil die Arbeit auf falschen medizinischen Grundlagen und ohne genügende historische Belege aufgebaut ist. Meine Meinung habe ich mir nicht auf Grund flüchtiger Erwägungen aufgebaut, sondern auf Grund historischer Forschungen. Ich kann sie daher auch nicht mit jugendlicher Leichtigkeit wechseln.



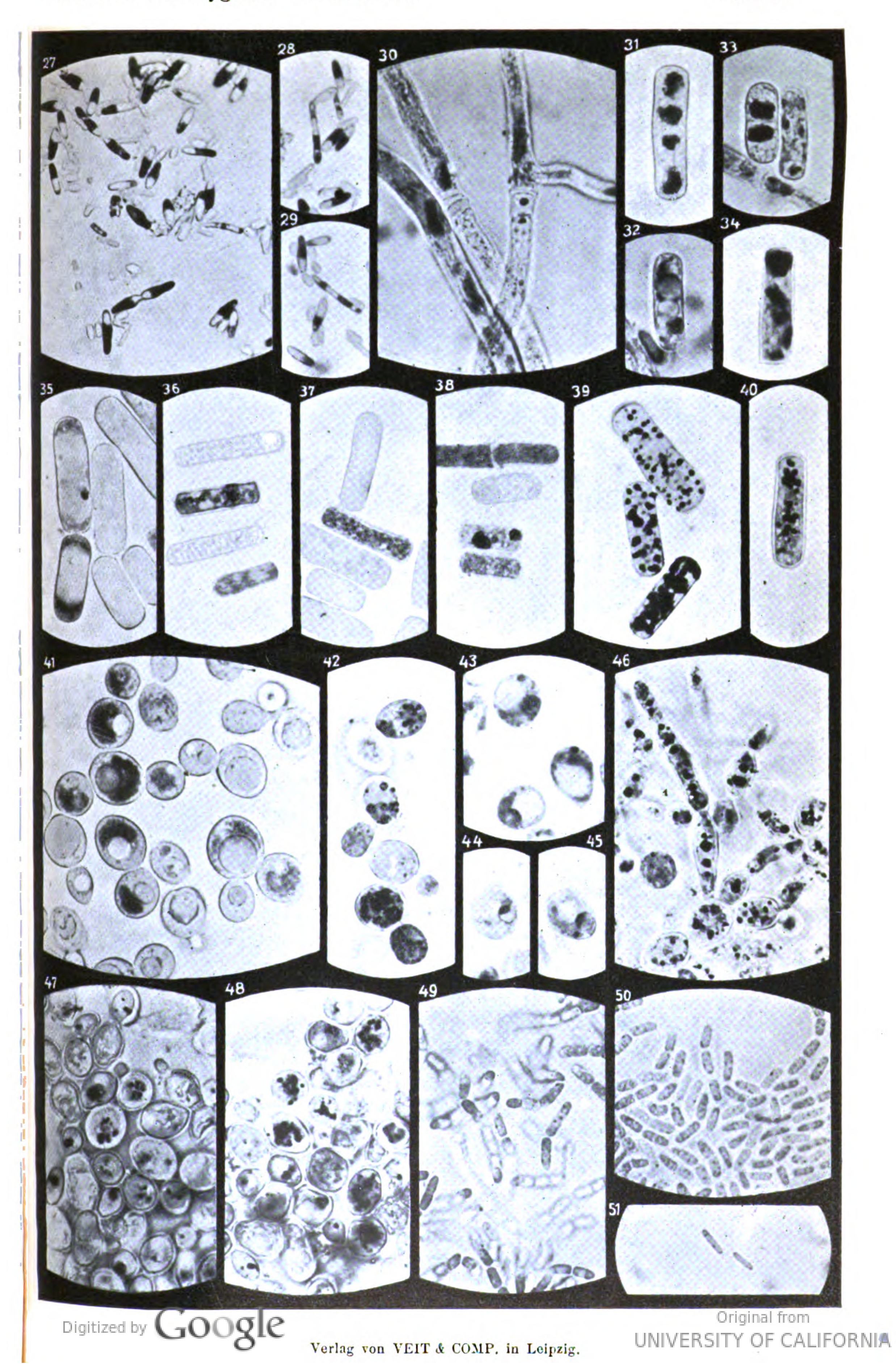
Kanngiesser hat nur in einem Punkte recht, daß ich, wie er auf S. 192 seiner Arbeit sagt, 14 statt 40 Tage geschrieben habe, aber das ist ein Lapsus calami oder richtiger der Schreibmaschine, alles andere ist falsch. Vor allem habe ich in meiner angeführten Arbeit in der Berliner klinischen Wochenschrift, 1914, Nr. 49, keine Übersetzung der Schilderung des Thukydides gegeben, sondern nur die Hauptsymptome frei angeführt. Kanngiesser hätte also, wie er eine „freie" Übersetzung in das Neugriechische abgedruckt hat, auch bei mir von einer freien Übersetzung sprechen müssen. Er hat dann S. 188 Literaturangaben gemacht, welche für einen Historiker nicht ausreichend sind. Er erwähnt da u. a. E. Ebstein. Wenn man aber über die Seuche des Thukydides schreibt, dann durfte man die Monographie von Wilhelm Ebstein aus dem Jahre 1899 nicht auslassen, welcher auf Grund eigener klinischer Erfahrungen die Diagnose Flecktyphus ausdrücklich abgelehnt hat. Ebenso mußte er meine oben erwähnte Arbeit anführen, und da er diese gelesen hat, so wäre ihm der Verlust des Augenlichtes ohne weiteres nach den Angaben auf S. 294 klar gewesen. Es wird dort auf die in der Dresdener Hygieneausstellung ausgestellten Moulagen des verstorbenen Direktors der Tierärztlichen Hochschule in Hannover Dammann hingewiesen (Sonderkatalog für die Gruppe Tierseuchen Nr. 25 und 26), welche den Hygienikern vielleicht noch erinnerlich, jedenfalls zugänglich sind.

Auf die sonstigen mir angestrichenen Fehler, mit denen ich mich in guter Gesellschaft befinde, will ich jetzt nicht eingehen.





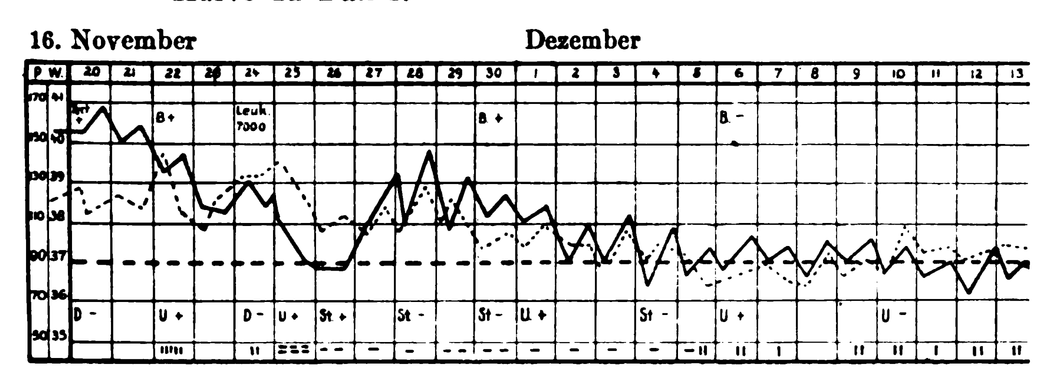

Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.



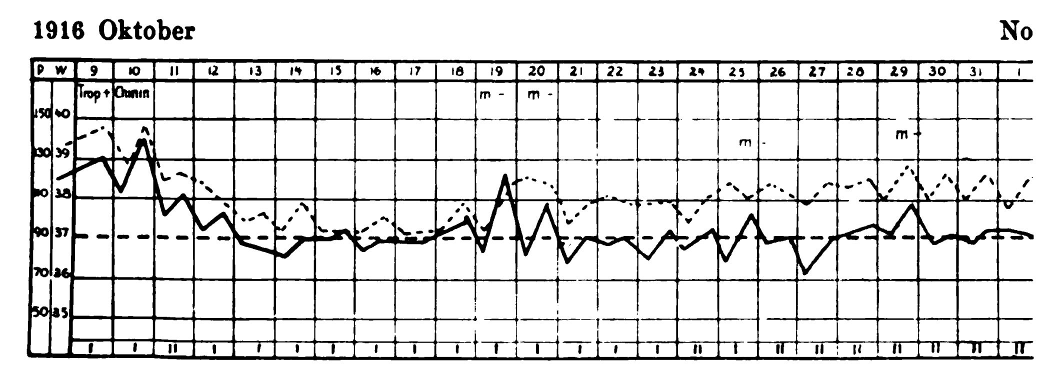



Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.

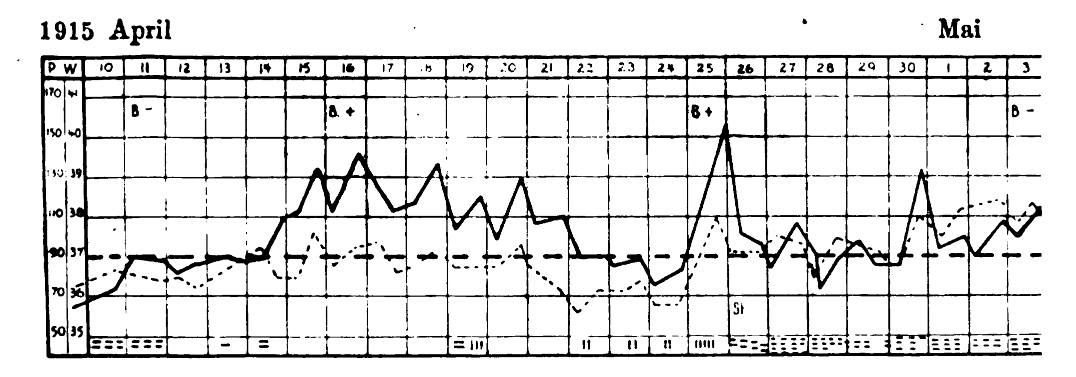
## Kurve zu Fall 1.




## Kurve zu Fall 18.




## Kurve zu Fall 26.






Zeitschrift für Hygiene. Bd. LXXXV.

Fig. 1.

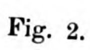


Fig. 2.

Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.

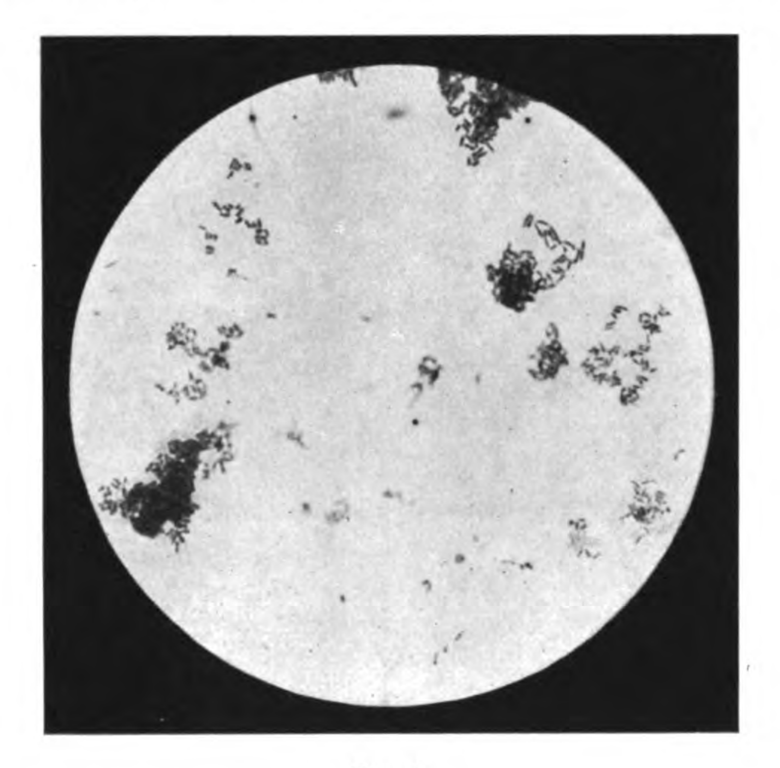


Fig. 4.



Fig. 6.


Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.

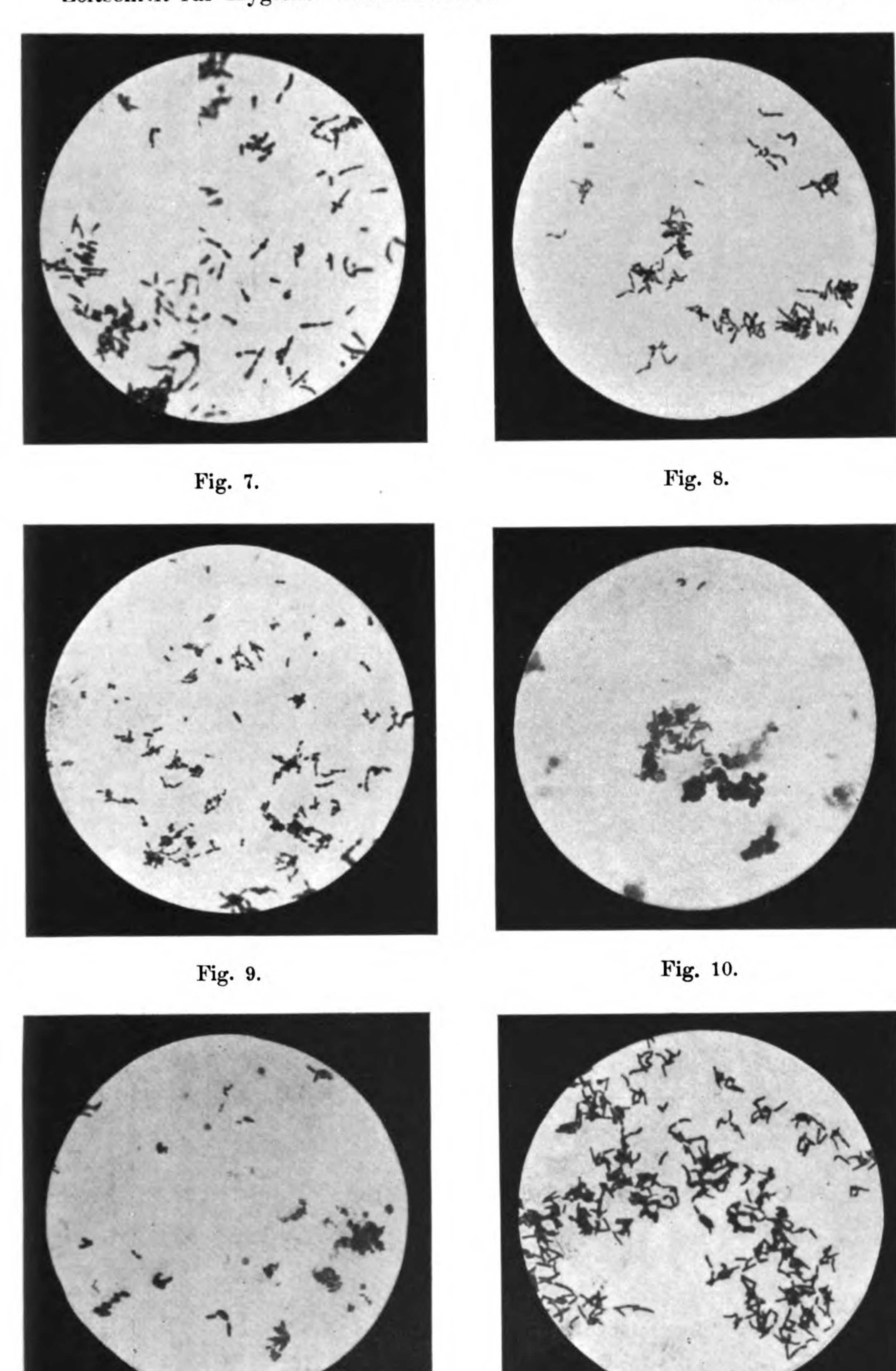


Fig. 7.

Fig. 8.

Fig. 9.

Fig. 10.

Fig. 11.

Fig. 12.

Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.

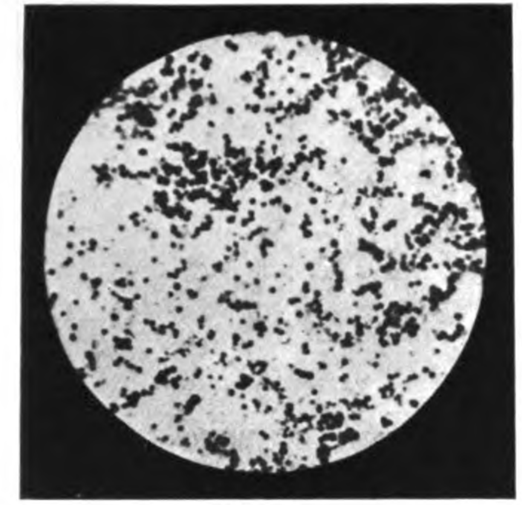


Fig. 1.

Fig. 3.

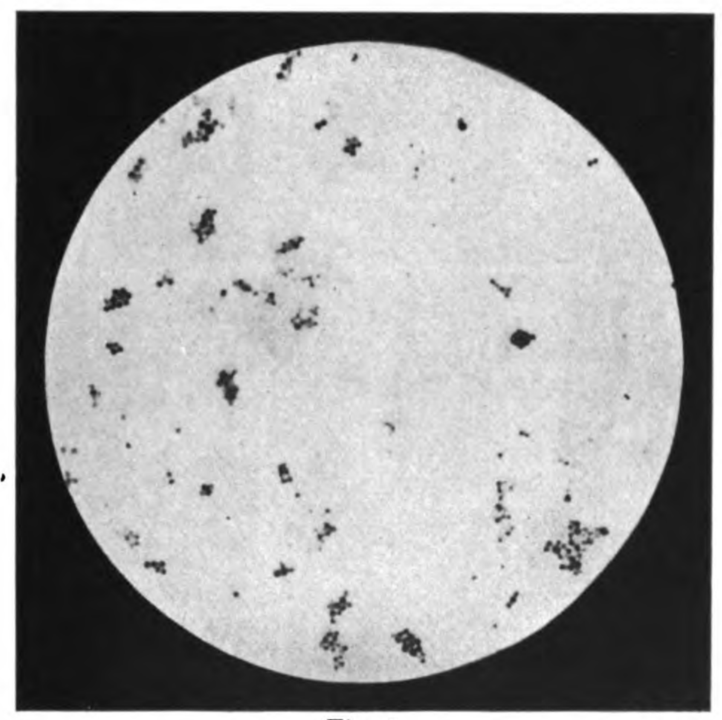


Fig. 2.

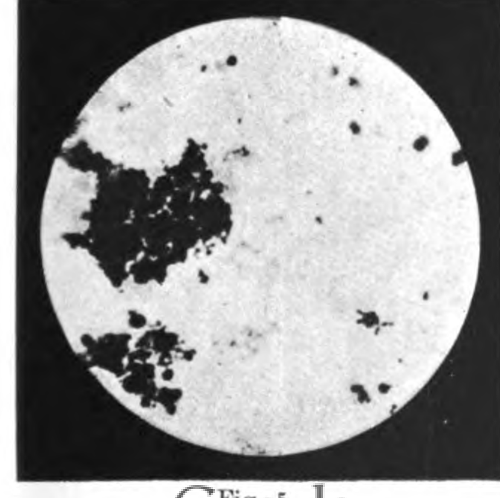


Fig. 5.

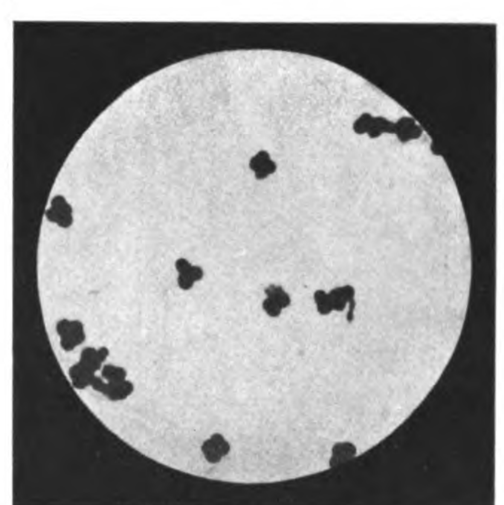


Fig. 6.



Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.

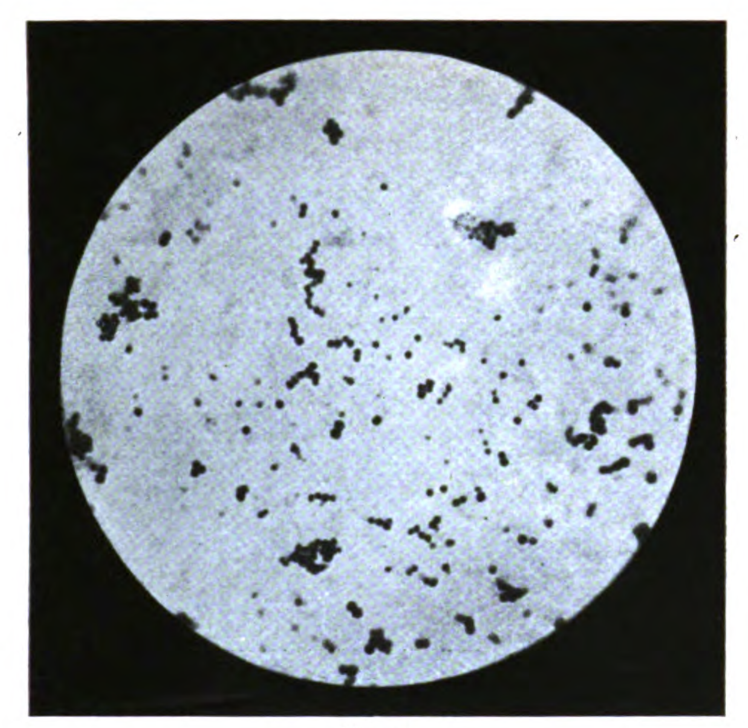


Fig. 4.

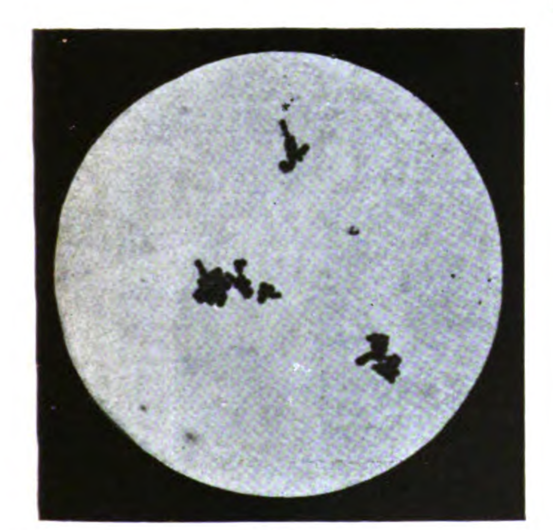


Fig. 7.

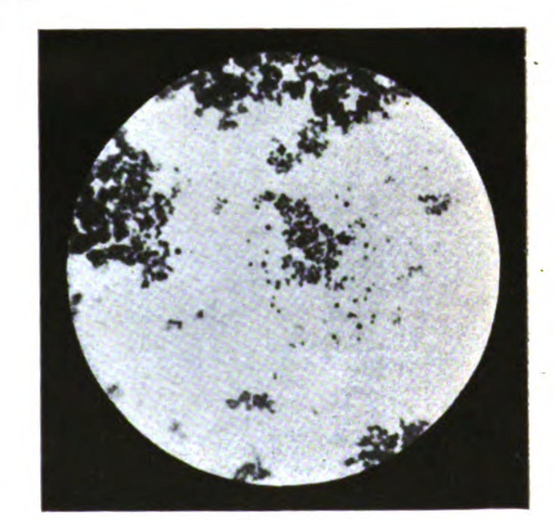


Fig. 8.

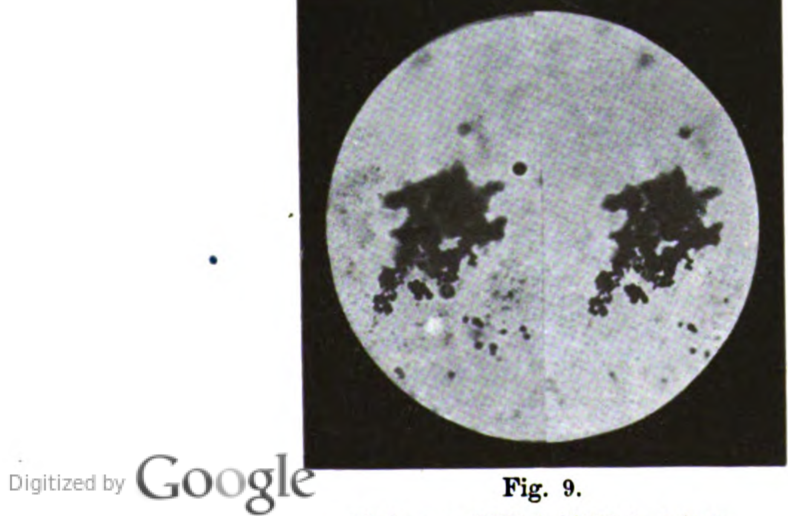


Fig. 9.





Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.



